

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA

Departamento de Fisiología (Fisiología Animal)



TESIS DOCTORAL

**Estudio biológico del *Riccardoella limacum* (Schränk) y su
influencia en la reproducción del *Helix aspersa* (L.)**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Juan Carlos Fontanillas Pérez

DIRECTOR:

Leopoldo Cuellar Carrasco

Madrid, 2015

R. 1587

TP
1988
098

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Veterinaria
Departamento de Fisiología



r-53-098960-2

**ESTUDIO BIOLOGICO DEL RICCARDOELLA
LIMACUM (SCHRANK) Y SU INFLUENCIA EN LA
REPRODUCCION DEL HELIX ASPERSA (L.)**



Juan Carlos Fontanillas Pérez
Madrid, 1988

Colección Tesis Doctorales. N.º 98/88

© Juan Carlos Fontanillas Pérez

Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía
Noviciado, 3 - 28015 Madrid
Madrid, 1988
Ricoh 3700
Depósito Legal: M-4069-1988



BIBLIOTECA

DEPARTAMENTO DE FISILOGIA
CATEDRA DE BIOLOGIA
FACULTAD DE VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

"ESTUDIO BIOLOGICO DEL RICCARDOELLA LIMACUM (SCHRANK) Y
SU INFLUENCIA EN LA REPRODUCCION DEL HELIX ASPERSA (L.)"

Memoria presentada para aspirar al Grado
de Doctor en Veterinaria por el
Licenciado:

D. Juan Carlos Fontanillas Pérez

Vº Bº Director

Prof. Dr. D. Leopoldo Cuéllar Carrasco El doctorando

Don LEOPOLDO CUELLAR CARRASCO, PROFESOR TITULAR DE
BIOLOGIA (ZOOLOGIA Y BOTANICA) DE LA FACULTAD DE
VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Informa:

Que la Tesis Doctoral titulada "ESTUDIO
BIOLOGICO DEL RICCARDOELLA LIMACUM (SCHRANK) Y SU
INFLUENCIA EN LA REPRODUCCION DEL HELIX ASPERSA (L.)"
de la que es autor D. Juan Carlos Fontanillas Pérez, ha
sido realizada en la Cátedra de Biología de la Facultad
de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid
bajo mi dirección y que cumple las condiciones exigidas
para optar al título de Doctor en Veterinaria.



Madrid, 28 de octubre de 1986.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento:

Al Profesor Dr. D. Leopoldo Cuéllar Carrasco por su dirección y apoyo incondicional en la realización de este trabajo.

Al Profesor Dr. D. Tomás Pérez García por sus valiosas enseñanzas de la Biología así como por su aliento y apoyo durante la realización de este trabajo.

Al Dr. D. Rafael Cuéllar Cuéllar que me inició en el campo de la heliocultura.

A todos los Profesores de la Cátedra de Biología por su desinteresada colaboración, así como a los alumnos internos que me ayudaron en la realización de esta investigación.

A D. Simón Vivas Gonzalez por su colaboración desinteresada en la ejecución de las fotografías electrónicas que ilustran este trabajo.

A mi tía Ninas
en agradecimiento a su
labor y apoyo durante
todos estos años

INDICE

Pag.

1. INTRODUCCION

1.1. Importancia y justificación de este trabajo	4
1.2. La heliocultura: su desarrollo y problemática.....	8
1.3. Estudio general del <i>Helix aspersa</i>	16

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1. Estudio biológico del <i>Riccardoella</i> <i>limacum</i> (Schrank).....	34
2.1.1. Características generales del <i>Riccardoella limacum</i>	34
2.1.2. Alimentación del <i>Riccardoella</i> <i>limacum</i>	46
2.1.3. Ciclo biológico.....	42
2.2. Aparato reproductor y reproducción del <i>Helix aspersa</i>	54

3. MATERIAL Y METODOS

3.1. Hábitat y comportamiento del Riccardoella limacum en relación con el Helix aspersa.....	67
3.2. Influencia del Riccardoella limacum (Schrank) en la reproducción del Helix aspersa (L.).....	75
3.2.1. Estudio comparativo del los parámetros reproductivos del Helix aspersa en caracoles sanos y parasitados por el Riccardoella limacum.....	75
3.2.2. Estudio espermático comparativo del Helix aspersa en caracoles sanos y parasitados por el Riccardoella limacum.....	79

4. RESULTADOS

4.1. Hábitat y comportamiento en relación con el Helix aspersa.....	92
4.2. Influencia del Riccardoella limacum (Schrank) en la reproducción del Helix aspersa (L.).....	95

4.2.1. Estudio comparativo de los parámetros reproductivos del <i>Helix aspersa</i> en caracoles sanos y parasitados por el <i>Riccardoella</i> <i>limacum</i>	95
4.2.2. Estudio espermático comparativo del <i>Helix aspersa</i> en caracoles sanos y parasitados por el <i>Riccardoella limacum</i>	112
5. DISCUSION.....	128
6. CONCLUSIONES.....	135
7. RESUMEN.....	138
8. BIBLIOGRAFIA.....	149

1. INTRODUCCION

1. INTRODUCCION

1.1. Importancia y justificación de este trabajo

El problema de la producción de proteínas animales a bajo costo es siempre un tema actual; hoy en día, con los cerdos, los porcinos y las aves de corral puede entrar también en competición los helícidos, que con poco gasto de instalación, mano de obra y alimentación, son capaces de proporcionar carne óptima y barata. Las circunstancias actuales por las que atraviesa la economía mundial, aconsejan la utilización de todos los recursos naturales, y entre ellos el caracol común, cuyo aprovechamiento ofrece un particular interés a los técnicos en producción animal.

El caracol común es un alimento tradicional, que consumido ya desde la antigüedad, ha continuado utilizándose como alimento en casi todos los países. Desde el punto de vista bromatológico, el caracol tiene un gran poder nutritivo siendo muy rico en pròtidos (de 5 a 6 veces mayor que la carne de bovino) y con un alto contenido en calcio, magnesio, cobre y zinc.

Debido a todas estas circunstancias, se ha observado un interés creciente por la cría de caracoles, dando lugar a un próspero desarrollo de la helicultura, actividad zootécnica, que está alcanzando un auge particular y relevante en el campo de la explotación comercial. En España, desde hace unos años la helicultura está comenzando a adquirir interés desde un punto de vista industrial.

Los criaderos de caracoles más avanzados en nuestro país, están constituidos para lograr un sistema de cría intensiva y no extensiva como se viene realizando en Francia.

Este sistema intensivo da origen, debido a la gran concentración de moluscos, a un extraordinario incremento de parasitación por el ácaro *Riccardoella limacum* (Schrank). Este ácaro se refugia en la cavidad paleal del molusco y, al nutrirse de sus fluidos sanguíneos, ocasiona un alto grado de mortalidad en su hospedador y por tanto una disminución apreciable de la rentabilidad de la explotación.

Para que la producción helicícola en nuestro país pueda tener realidad de futuro, se considera

imprescindible estudiar en profundidad la influencia del parasitismo del *R. limacum* en todas sus vertientes.

A este respecto se realizaron anteriormente algunas investigaciones sobre diferentes métodos de erradicación del *R. limacum* que evitase en el mayor grado posible, la gran mortalidad del caracol antes citado en las explotaciones controladas.

Pero por otra parte, se ha considerado que la parasitación tiene una gran influencia en la reproducción del caracol. Es pues, por lo que hemos enfocado las investigaciones, como continuidad a nuestros trabajos anteriores, hacia el estudio de la influencia del grado de parasitación del *R. limacum* sobre la capacidad reproductiva del *H. aspersa*.

En este trabajo se presenta un estudio biológico detallado sobre el ácaro *Riccardoella limacum* que parasita al caracol *Helix aspersa*, y se estudia experimentalmente su influencia en la reproducción de este molusco.

Se ha establecido la morfología, ciclo

- 14.- BLINÉAU, R. 1980. L'escargot, un élevage et qui raporte... Ed. Bornemann, Paris.
- 15.- BOLE-RICHARD, M.A. GRIFFOND, B. 1982. A quantitative and qualitative study of proteins of the gonadal extract during growth and phases of reproductive activity in the snail *Helix aspersa*. Wilhelm Roux's Archives of developmental Biology (West Germany) Vol. 191. n.2. 91-94.
- 16.- BONAVIDA, D. 1964. Conditions écologiques de la formation de l'épiphragme chez quelques hélicidés de Provence. Vie et Milieu, 15, (3) 721-755.
- 17.- BORCHERT, A. 1981. Parasitología veterinaria. Ed. Acribia, Zaragoza.
- 18.- CADART, J. 1975. Les escargots. Ed. Lechevalier, Paris.
- 19.- CAMPION, M. 1961. The structure and function of the cutaneous glands in *Helix aspersa*. Quart. J. Micr. Sc. 102 (2) 195-216

- 20.- CORNING, W., DYAL, J., WILSONS, A. 1973. Invertebrate learning. Plenum Press, New York 2.
- 21.- CORTESE, M. 1942. Piccola Enciclopedia pratica de ll'allevatore. Ed. Hoepli, Milano.
- 22.- CROBELL, H. 1973. Laboratory study of calcium requirements of the brown garden snail, *Helix aspersa* Müller. Proceedings of Malacological Society of London 40, 491-503.
- 23 CUELLAR, L. Comunicación personal
- 24.- CUELLAR, R. 1980. Valor nutritivo del caracol, Curso Monográfico del Doctorado, Cátedra de Bromatología, Facultad de Veterinaria. Madrid.
- 25.- CUELLAR, R. 1984. Biología y explotación del caracol español *Helix aspersa*. Tesis de la Universidad Complutense de Madrid.
- 26.- CUELLAR, R., PEREZ GARCIA, T., CUELLAR, L. 1985. Helicicultura. Ed. Mundi-pressa. Madrid.

Terencio Varron menciona en algunas de sus obras que el primer parque helicícola fue establecido por Fulvio Hilpinio y señaló las condiciones a reunir por tales instalaciones: Sitio sombreado, fresco, húmedo y cerrado para impedir las fugas, así mismo diseña un sistema de humidificación por medio de un tubo terminado en un cierto número de protuberancias que lanzan el agua contra rocas. (54)

Hasta hace poco, hemos de señalar que la actividad helicícola se limitaba a la simple búsqueda del molusco y la mayoría de las veces para consumo propio o bien para vender en mercados. A partir de finales del siglo pasado, las cualidades gastronómicas del caracol comenzaron a ser tan apreciadas que pasó a convertirse en un alimento muy solicitado. En 1952, en Francia, se consumieron cuarenta mil Tm. de caracoles, es decir diez veces la cantidad consumida en 1910. Después de los años sesenta los intentos de crianza del caracol fueron realizados por criaderos particulares en instalaciones rústicas al aire libre. En la última década la cría casera de caracoles adquiere gran auge en Francia. En Alemania, especialmente en el sur, han logrado conseguir avances espectaculares en sus viveros de caracoles caseros y

los escandinavos llevaron a cabo algunas realizaciones al respecto. En España en este periodo se han montado en todo el país gran cantidad de viveros de mayor o menor perfección.

La Helicicultura como tal industria de cría y explotación comercial de caracoles a gran escala, con fines alimentarios, en paralelo al porcino, aviar, etc, está en estos momentos en vías de desarrollo y al igual que toda nueva industria Zootécnica presenta como principales problemas el dominio de la técnica y su rentabilidad económica.

Tratar realmente la cría del caracol, entendida en sentido zootécnico (reproducción, selección, alimentación etc.), considerando los actualmente modestos y no suficientemente controlados conocimientos de las técnicas en relación a sus factores ambientales, es problemático y arriesgado. Pero, teniendo en cuenta, que en Francia y en otros países de la C.E.E. los caracoles en este momento son objeto de una viva actividad industrial y comercial en vías de continuo crecimiento, debemos intentar seguir su ejemplo y aprovechar esta fuente de riqueza. Con ello se podría no sólo poner a disposición de los

criadores una nueva fuente de ingresos, sino también apoyar su economía y por tanto la economía general del país.

En nuestro país la heliocultura está comenzando a adquirir interés desde el punto de vista industrial. Los primeros ensayos de los que se tiene noticia sobre la crianza de este molusco son, según Pardo, anteriores al año 1936. A partir de entonces, se han venido utilizando distintos tipos de criaderos naturales y controlados, en lenta evolución, hasta llegar al sistema de cría en bandejas, estudiado y desarrollado por Cuéllar Cuéllar en 1985.

En el año 1979 se inician los ensayos con criaderos en ambiente controlado. Los caracoles se crían en cajas de madera con malla de plástico instaladas en grandes naves. La alimentación se efectúa con piensos artificiales.

En el año 1981 se construye en Motilla del Palancar (Cuenca) un criadero controlado de cría en bandejas diseñado por Cuéllar Cuéllar.

Este tipo de instalaciones está constituido, en esencia, por baterías formadas por dos bandejas paralelas separadas entre si y provistas de un sistema antifuga. Para aumentar la superficie habitable de cada bandeja, cada una de ellas lleva colocadas sobre si y perpendicular a ellas, paneles de plástico sujeto por una cercha metálica. La alimentación es igualmente con pienso artificial y la densidad de individuos varía entre 60-80 caracoles/m² y 400 caracoles/m². La densidad normal viene siendo de unos 100 caracoles/m².

En la actualidad existen varios proyectos para criaderos de caracoles con este sistema de crianza sencillo, que reporta un gran rendimiento, ya que con él es posible mantener en actividad constante a los moluscos durante todo el año, aumentando considerablemente el rendimiento.

Sin embargo, la infraestructura del sistema, que admite una gran concentración de individuos en un espacio mínimo, da lugar a un grave problema parasitario, producido por el ácaro *Riccardoella limacum* (Sohrank), que origina un alto grado de mortalidad del molusco y, como consecuencia, un importante descenso del rendimiento del sistema de

explotación.

No obstante para que esta industria con cría controlada alcance las cotas de máxima rentabilidad, es necesario realizar el estudio de la influencia de este ácaro en la reproducción del molusco, base fundamental del éxito de la explotación, pudiendo de este modo establecerse las bases de aplicación de los métodos de erradicación.

Características nutritivas del caracol

El caracol merece una especial consideración según las modernas concepciones dietéticas. Tiene un valor proteico considerable, superior al de la ostras y al de los huevos de ave, y un contenido en sales minerales prácticamente doble al de la carne bovina y aviar, y ante todo merece poner de relieve la escasísima cantidad de grasa en su carne.

El notable valor nutritivo de los caracoles se ha puesto de relieve en un detallado estudio de Ubertelle-Maletto-Ginecioli (78) sobre la composición

químico-bromatológica de algunas especies comestibles de caracoles que consideramos interesante citar a continuación.(TABLAS 1-1,1-2.).

TABLA 1-1

COMPOSICION QUINICO-BROMATOLOGICA DEL CARACOL

Componentes (g en 100g de sustancia seca)	Helix pomatia		Helix lucorum
	menor	mayor	
Contenido proteico	12,38	12,61	16,02
Contenido graso	0,75	0,56	0,65
Sales	1,93	1,86	2,17
Agua y otras sustancias	84,94	84,97	81,16

TABLA 1-2

Elementos mg en 100 g de sustancia seca	Helix pomatia		Helix lucorum
	minor	major	
Níquel	0,773	0,773	0,778
Cobalto	0,168	0,228	0,240
Boro	0,113	0,112	0,090
Cobre	0,702	0,693	0,702
Magnesio	0,090	0,030	0,013
Aluminio	0,193	0,180	0,173
Plomo	trazas	trazas	trazas
Estaño	trazas	trazas	trazas

1.3. Estudio General del Helix aspersa

Características generales del Helix aspersa

Con el nombre de caracoles suelen designarse la mayoría de los moluscos pertenecientes a la clase Gastrópodos; de éstos, hay bastantes especies terrestres y muchas más acuáticas, en su intensa mayoría marinas. De las terrestres, las más comúnmente conocidas, y más frecuentemente denominadas caracoles, son los pertenecientes al género *Helix*, caracoles comestibles, de interés primordial y base de este trabajo.

Dentro de la sistemática zoológica esta clase de Gastrópodos viene encuadrada del modo siguiente.

- Grupo o tipo "Moluscos", (del latín moluscos = blando), animales blandos sin esqueleto interno

- Clase "Gastrópodos": (del griego gaster = vientre y podos = pié), animales que se desplazan o arrastran sobre el vientre.

- Subclase "Lutineos", (también de raíces

griegas) cuya significación es que los conectivos pleuroviscerales no están cruzados y son muy cortos.

- Orden "Pulmonados", respiran el aire por medio de una especie de pseudopulmón o cavidad pulmonar.

- Suborden "Estilomatóforos", al presentar los ojos en la extremidad de los tentáculos superiores.

- Familia "Helícidos", por la disposición helicoidal de su concha.

Según lo expuesto, el caracol es pues un molusco Gastrópodo, de cuerpo blando, protegido por una concha cornea calcárea dispuesta helicoidalmente y su medio de locomoción es ventral.

Morfología externa, anatomía interna y fisiología del caracol

El caracol, anatómicamente considerado, está constituido por la concha y el cuerpo.



a) La concha es univalva, globulosa y arrollada en espiral en distintos planos alrededor de un eje columelar compacto en *M.* *aspersa* y hueco en otras especies, con una extremidad superior o ápice y otra inferior u ombligo, situado debajo del borde terminal o peristoma. La concha con 4 ó 5 espiras, presenta estrías o líneas de crecimiento paralelas al eje y bandas coloreadas perpendiculares a las estrías. El límite entre las espiras se denomina línea de sutura.

Estructuralmente, la concha se halla constituida por tres capas : una externa o periostraco, compuesta por una fina película de materia orgánica o conquiolina, otra media o mesostraco formada por láminas prismáticas impregnadas de compuestos cálcicos cristalizados (tipo calcita) en el seno de una matriz proteica y otra interna o endostraco, o conjunto de láminas superpuestas formadas alternativamente por carbonato cálcico cristalizado (tipo aragonito) y conquiolina.

La función principal de la concha, es defensiva frente a las condiciones ambientales y a sus enemigos naturales. Esta función defensiva la ejerce al permitir que el animal se refugie en su interior

mediante la intervención de varios músculos, y en especial el columelar.

b) Cuerpo recubierto por el tegumento, cabe distinguir en él: la cabeza, el pié y la masa visceral.

La cabeza se distingue por la presencia de unos tentáculos característicos en número de cuatro, dos de ellos, los superiores, más largos, y por un ligero estrechamiento equiparable a un cuello. La cabeza posee también la boca y el orificio genital.

El saco visceral está formado por la bolsa de las vísceras, que se apoya sobre una formación muscular.

La masa visceral está situada por encima de la cabeza y del pié, está totalmente cubierta por la concha y alberga los aparatos digestivo, circulatorio, genital y excretor.

La parte del cuerpo que permanece fuera de la concha cuando el animal se encuentra en actividad, está representada casi en su totalidad por la cabeza y el pié, mientras que el saco visceral permanece dentro de la concha. El cuerpo del caracol podría considerarse

constituido a manera de una doble bolsa, la interior muscular y la exterior, de revestimiento o cutánea, que recibe el nombre de "manto o palio" en su parte dorsal y se extiende marginalmente con una expansión laminar que después se pliega adhiriéndose internamente a la concha formando una cavidad, llamada "cavidad paleal" que comunica con el exterior por medio de un orificio llamado pneumostoma, que se abre a la derecha del borde de la concha.

Sobre toda esta capa cutánea se encuentran numerosísimas glándulas mucígenas que segregan un moco llamado comúnmente "baba", con función protectora, lubricante y gran poder hidrófilo. La secreción de glándulas situadas en el manto contienen sustancias especiales con conquiolina que se solidifican en contacto con el aire, dando lugar a la concha. La estructura detallada del caracol viene indicada en la FIGURA 1-1.

La concha definitiva del caracol no es pues una parte integrante del cuerpo, sino, tal y como hemos indicado, solamente producto de la secreción del manto y adherida al cuerpo mediante un músculo llamado músculo columelar. En su formación, la concha sigue el

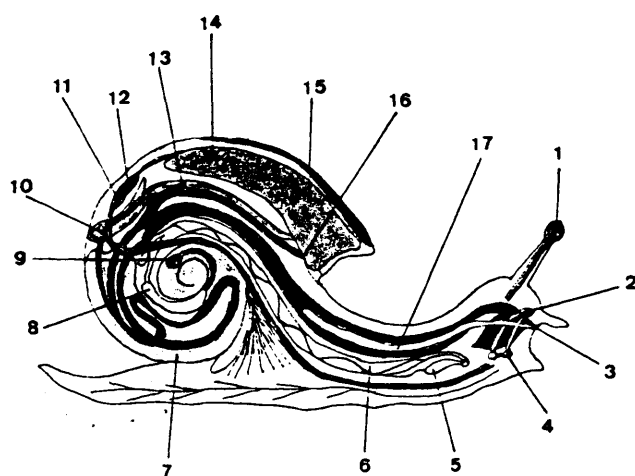


FIGURA 1-1 ESTRUCTURA DETALLADA DEL CARACOL

- | | |
|----------------------------|-------------------------|
| 1. Ojo | 10. Nefridio |
| 2. Ganblio cerebroida | 11. Ventrículo |
| 3. Boca | 12. Aurícula |
| 4. Ganglio pedico | 13. Intestino |
| 5. Bolsa del dardo | 14. Manto vascularizado |
| 6. Oviducto | 15. Cavidad paleal |
| 7. Hepatopancreas | 16. Cloaca |
| 8. Glándula de la albúmina | 17. Glándula salival |
| 9. Ovotestis | |

proceso de torsión del saco visceral durante el crecimiento y por tanto presenta disposición dextrorsa.

A pesar de la aparente simplicidad de su estructura anatómica, el caracol presenta una organización fisiológica y una diferenciación de sus órganos, por lo que es de interés hacer una somera descripción de los mismos y de sus funciones biológicas exceptuando lo que respecta a la función reproductora, que por ser base fundamental del tema de este trabajo, se tratara en profundidad en su correspondiente apartado. (APARTADO 2.2.)

Aparato respiratorio y su función biológica

El principal órgano respiratorio se halla constituido por la cavidad paleal, saco pulmonar o pseudopulmón que comunica con el exterior por el orificio respiratorio o pneuostoma. Esta cavidad paleal se encuentra tapizada por una gran cantidad de vasos finamente ramificados, en los que se produce la hematosis y que confluyen en la vena pulmonar por la que circula sangre o hemolinfa oxigenada, cuyo pigmento respiratorio es la hemocianina. Los caracoles disponen

además de un mecanismo respiratorio cutáneo muy importante.

El órgano principal de la respiración, la cavidad paleal, tiene capacidad para producir movimientos inspiratorios y espiratorios con un ritmo de 3 - 4 movimientos por minuto. El aire penetra a través del pneumostoma en la cavidad paleal, oxigenando la sangre que circula por los finos capilares que tapizan dicha cavidad y seguramente es expulsado tras efectuar la hematosis.

La respiración pulmonar viene a ser completada por la respiración cutánea que puede llegar a representar el 40-80% de la respiración total.

Aparato digestivo y su función biológica

Comienza en la boca, se continua con un bulbo bucal musculoso provisto de una mandíbula denticular quitinosa, con una lengua recubierta de una lámina córnea denominada rádula. En la base de la rádula se encuentra el odontóforo cuya función es la de regenerar continuamente esta estructura radular. A continuación

del bulbo se encuentra la faringe, seguida del esófago y de un estómago muy voluminoso, frsiforme rodeado por dos glándulas salivares blanquecinas y multilobuladas, que desembocan en el bulbo bucal. El intestino que parte del estómago es muy largo y sufre la flexión ventral con lo cual el ano se aproxima hacia la boca. El hepatopáncreas es un voluminoso anejo del aparato digestivo que desemboca entre el estómago y el intestino.

Los helícidos terrestres se alimentan principalmente a base de vegetales que cortan y trituran con su mandíbula superior y la rádula mediante movimientos de vaiven. Las glándulas salivares vierten su secreción neutra o alcalina, favoreciendo la deglución. Los alimentos inician una digestión lipídica en el estómago, pero es el hepatopáncreas la glándula encargada de proporcionar los fermentos adecuados para la digestión del resto de los nutrientes, y de aquí, que sea éste considerado la glándula digestiva por excelencia.

El intestino participa en la excreción de los residuos alimentarios y en el desdoblamiento de la celulosa merced a su flora microbiana.

Aparato excretor y su función biológica

Es de tipo nefridiano, presenta un solo riñón u órgano de Bojanus de color amarillento. Tiene forma triangular y pueden diferenciarse, funcionalmente, dos partes, una excretora y otra de acumulación, formada esta última, por una vejiga de la que sale un canal excretor que desemboca en la cavidad paleal junto al ano.

La eliminación de los productos metabólicos de desecho se lleva a cabo merced al órgano de Bojanus y, sobre todo, a través de las paredes del intestino.

Aparato circulatorio y su función biológica

Lo constituye principalmente el corazón, el cual consta de una aurícula periforme en posición cranial y de un ventrículo alargado en posición caudal. El corazón está situado en posición dorsal y está protegido por el pericardio. El resto del aparato circulatorio lo integran los vasos. Del ventrículo nacen dos aortas, la anterior que irriga el pie y la región cefálica, y la posterior que irriga el

hepatopáncreas y el ovotestis. Ambas aortas por ramificación dan lugar a las restantes arterias, originando un sistema vascular arterio-venoso, intercalado por senos o lagunas venosas que constituyen una circulación sencilla y abierta.

La hemolinfa oxigenada en la cavidad paleal pasa a través de la vena pulmonar a la aurícula, después al ventrículo y desde aquí a las arterias que la reparten por toda la anatomía del caracol. Una vez irrigados los distintos tejidos retorna al pseudopulmón por las venas a través de los senos venosos, repitiéndose el ciclo circulatorio.

El pigmento fundamental de la hemolinfa de los Gastrópodos es la hemocianina, cuya estructura química es la de una cromoproteína no porfirínica con una riqueza en cobre del 0,17 - 0,26%.

El ritmo cardíaco oscila entre 20 y 35 contracciones/minuto a 12-14°C pudiendo llegar a 100-110 contracciones/minuto a 39°C ó 8-0 contracciones/minuto en épocas de letargo invernal.

Sistema nervioso

Está formado por el sistema simpático o estomogástrico y el sistema central.

El sistema simpático inerva casi la totalidad del aparato digestivo. Está integrado por un par de ganglios locales situados bajo el bulbo bucal y unidos entre sí por los cordones que les comunican con los ganglios cerebroides.

El sistema nervioso central está constituido por el collar periesofágico, formado a su vez por un sistema de ganglios anteriores. A este sistema ganglionar corresponden los ganglios cerebroides, pedios y el sistema ganglionar visceral, formado este último por dos ganglios pleurales y tres ganglios viscerales. A este conjunto ganglionar se le conoce como complejo cerebro-pleuro-pedio.

Los ganglios cerebroides inervan los tentáculos, labios y boca, mientras que los restantes ganglios inervan la cavidad paleal, saco visceral, pié y músculo columelar.

Organos de los sentidos

Como tales órganos son de considerar los táctiles, los oculares y los del equilibrio.

Los órganos táctiles se encuentran repartidos por los tentáculos, labios y borde del pié y radican en las células neuroepiteliales que constituyen el tegumento de estas superficies.

Los órganos oculares están en el extremo de cada uno de los dos tentáculos mayores. Lo forman ojos con córnea, cristalino, humor vítreo y su correspondiente nervio óptico. La función de estos órganos es fotorreceptora con muy poco poder visual.

El órgano del equilibrio reside en los otocistos, que son pequeñas esferas recubiertas por dos capas con tres pequeños corpúsculos calcáreos en su interior, llamados otolitos y sumergidos en el seno de un líquido fisiológico.

El sentido más desarrollado de los Helicidos es seguramente el del tacto, al menos es el más generalizado en toda la superficie tegumentaria. La

zona más sensible son los tentáculos inferiores y la cabeza.

Respecto al olfato, los helícidos son capaces de diferenciar olores a una distancia de 50 cm. variando ésta con el tipo de sustancia y la intensidad del estímulo. Los receptores olfativos se encuentran distribuidos especialmente en los tentáculos y en los labios, y suelen ir asociados a los del gusto.

La sensibilidad auditiva es escasa y está ligada con la del equilibrio, residiendo en los otocistos.

La agudeza visual de estos individuos es más bien escasa por no decir nula, ya que sólo son capaces de diferenciar la luz de la oscuridad y objetos de escasa coloración a una distancia de 2-6 mm.

Aparato reproductor

Es el órgano más voluminoso y complicado de los Helícidos. Comprende tres partes muy diferenciadas que podemos dividirles en porción inicial, intermedia

y terminal y cuya descripción y función fisiológica será tratada en detalle en el APARTADO 3. dada la importancia que éste tiene, según hemos indicado, en el presente trabajo

Ritmos biológicos

En la vida de los caracoles hay tres fases diferentes de actividad fisiológica: Vida activa, estivación e hibernación.

Cada una de estas fases, está en estrecha relación con las condiciones higrométricas y térmicas ambientales.

La estivación es un estado letárgico que se desarrolla en las épocas de máximo calor y menor humedad ambiental, cuya duración puede ser de hasta cuatro meses, durante los cuales el metabolismo del caracol disminuye, llegando incluso a paralizarse. Esta fase puede no existir si las condiciones climáticas no llegan a ser extremas.

La hibernación también es un estado letárgico que se produce cuando baja la temperatura o disminuye la alimentación. Durante esta fase de la vida del caracol se paralizan las funciones digestivas y la frecuencia cardíaca disminuye hasta tres contracciones por minuto a 0°C. Durante este periodo, el caracol vive de las reservas acumuladas, especialmente del glucógeno acumulado en el hepatopáncreas.

Durante las dos fases anteriores, la estivación e hibernación, los caracoles se operculan en el interior de su concha mediante la secreción de una sustancia mucosa, que en contacto con el aire, se endurece y forma el epifragma.

Ecología y distribución geográfica

Los caracoles, en general, requieren suelos calizos bien sean selváticos o con escasa vegetación. La humedad es indispensable para la biología del caracol ya que ésta regula su actividad. El caracol requiere una humedad relativa del 90% pero, sin embargo, el incremento o disminución de este valor óptimo hace disminuir sus funciones vitales.

La temperatura óptima para los helícidos es de 15-20°C. Al igual que con la humedad, temperaturas superiores o inferiores a este valor, disminuyen o paralizan la actividad vital de los caracoles.

Los caracoles son animales lucífogos. El fotoperiodo influye en gran medida en su actividad fisiológica y reproductiva.

La distribución geográfica está en relación con las necesidades biológicas de la especie. El *Helix aspersa* se encuentra en casi todos los países del área mediterránea y en las regiones atlánticas de Europa no superiores a los 1.000 m. de altitud.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 ESTUDIO BIOLOGICO DEL RICCARDOELLA LIMACUM (SCHRAM)

Aunque el *R. limacum* fue inicialmente reseñado por REAMUR en 1710, el primer trabajo importante sobre este ácaro y de consideración fue el realizado por TURK y PHILIPS en el año 1946, no obstante algunos autores como S. THOR (1933), GRANDJEAN (1939), LAURENCE (1952), SCHUMACHER y HOEPPLI (1963), y FAIN (1957-62) hicieron interesantes aportaciones, en relación con la estructura y comportamiento de la especie indicada. En todos ellos se basaría más tarde BAKER (1967 y 1973) en sus investigaciones, dando como resultado una serie de publicaciones, que son las aportaciones más importantes llevadas a cabo hasta la fecha para el conocimiento del *R. limacum*.

2.1.1. Características generales del Riccardoella limacum

El *Riccardoella limacum* pertenece a una familia de ácaros trombidiformes denominada Breynetiidae. Esta familia incluye las formas de vida libre y

parasitaria.

El *R. limacum* es un ácaro que vive en la superficie y en el interior de la cavidad paleal de los moluscos terrestres (FIGURA 2-1). Se le conoce generalmente con el nombre de ácaro de las babosas, ya que tiene un amplio rango de hospedadores entre babosas y caracoles. TURK y PHILLIPS citaron una lista de 31 especies de moluscos en los cuales fue encontrado este ácaro.

Los ácaros de la familia Ereyneidae son de pequeño tamaño, cubiertos de un tegumento blanco finamente rayado con una sutura entre el propodosoma y el histerosoma. Poseen dos pares de largos pelos sensoriales, un par situado sobre el propodosoma y otro sobre el histerosoma. Posee una uña sencilla en cada extremidad, tres o cinco pedipalpos unidos y dos pares de ventosas genitales.

Estos animales poseen tres o cuatro pares de apéndices ambulacrales, (tres pares en estado larvario y cuatro pares en estado de ninfa y adulto).



FIG. 2-1. A) PARASITACION EXTERNA DEL HELIX ASPERSA POR EL RICCARDOELLA LIMACUM.



FIG. 2-1 B) DETALLE DEL RICCARDOELLA LIMACUM.

En principio el cuerpo comprende:

1º El prosoma que se divide en a) el gnathostoma, portador de los quelíceros y los pedipalpos, que forman un rostro; b) el podosoma, a su vez dividido en propodosoma con el 1º y 2º par de apéndices locomotores, y el metapodosoma, con los pares 3º y 4º.

2º El opistosoma cuyos segmentos son ápodos.

La forma esquemática del emplazamiento de las partes constituyentes citadas y el detalle de las mismas vienen indicadas en las FIGURA 2-2.

Aparato digestivo del Riccardoella limacum

TURK y PHILLIPS (1946) tuvieron en consideración el canal alimenticio en detalle en los ácaros trombidiformes. Más tarde BAKER (1967-1970) hizo un estudio a fondo sobre el canal alimenticio del R. limacum haciendo una descripción detallada del mismo. Según este autor el aparato digestivo de estos ácaros está constituido por una faringe muscular fuertemente esclerosada y un esófago largo y estrecho no

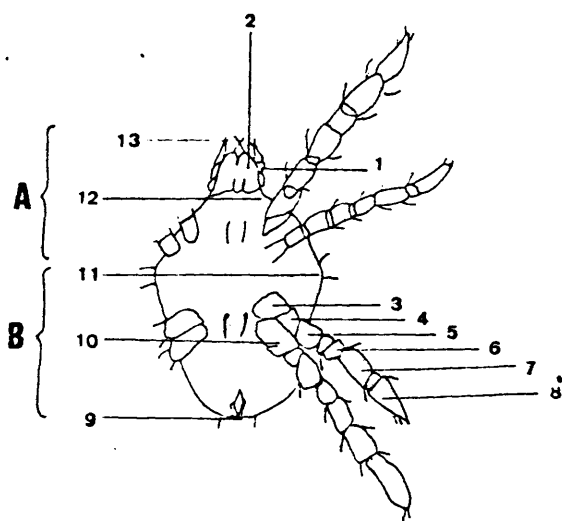


FIG. 2-2. ANATOMIA EXTERNA DE UN ACARO VISTO POR SU CARA VENTRAL.

A. Proterosoma

B. Histerosoma

1. Palpo

8. Tarso

2. Roscro

9. Opistósomodos

3. Coxa

10. Metápodo

4. Trocanter

11. Própodos

5. Fémur

12. Gnatos

6. Rodilla

13. Quelícero

7. Tibia

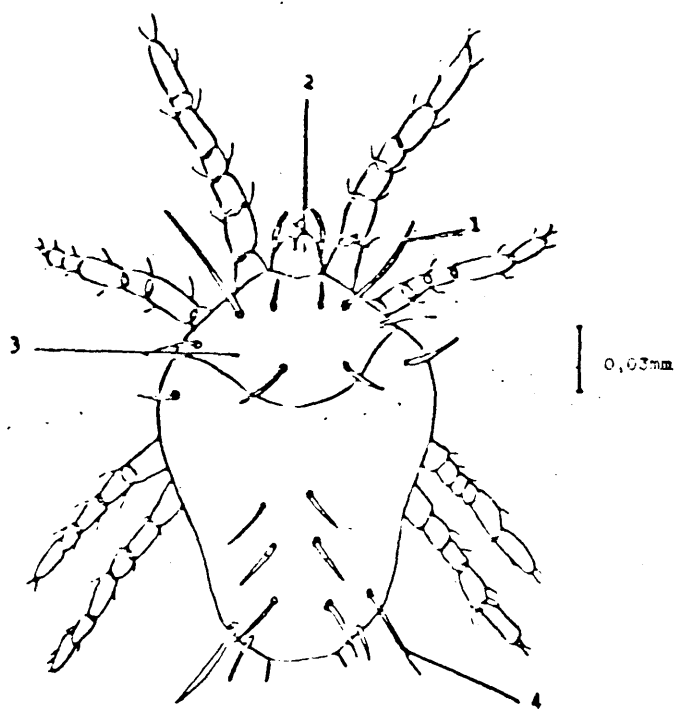


FIG. 2-2 BIS *RICCARDGELLA LIVACUM*. CARA DORSAL

1. Pelos sensoriales anteriores
2. Gnastosoma
3. Escudo dorsal
4. Pelos sensoriales posteriores

esclerosado, un ventrículo con pares de ciegos intestinales asociados junto con las glándulas salivares en su parte anterior y un conducto mediofonsal prolongado posteriormente, el cual tiene una función excretora y puede así mismo representar el intestino en los ácaros trombidiformes.

Las glándulas salivares vierten sobre los alimentos una secreción digestiva que provoca una digestión extraintestinal, a la que sigue, después de la absorción de los alimentos, una digestión intestinal.

Según TURK y PHILLIPS (1946), es en la porción anterior del esófago en la que tiene lugar la absorción. Se basa en que las paredes de dicho órgano están revestidas de unas células muy finas y también debido a los movimientos peristálticos de ventrículo, el cual parece conducir el fluido dentro del esófago. Sin embargo BAKER (1970) considera las asas intestinales como lugar preeminente para la digestión y absorción. Las asas intestinales, de forma y estructura variable, situadas dorsalmente, ocupan la mayor parte del volumen del intestino del ácaro.

Aparato excretor

En relación con el aparato excretor, la mayoría de los autores han registrado la presencia de un conducto dorsal medio cuya porción posterior se expande dentro de un "rectum o urodaeum" y que según observaron TURK y PHILLIPS (1946) se llenaba gradualmente con productos excretados. Con relación al aparato excretor BAKER (1969) afirma que en la mayoría de los trombidiformes parece tener una conexión con el ventrículo.

Sistema nervioso

El sistema nervioso del *R. linacum* según BAKER (1973) está formado por una masa de ganglios cuya parte fibrosa ocupa la posición central. Además de los cuatro pares de nervios palpaes y el par de nervios posteriores que observaron TURK y PHILLIPS (1946), BAKER observó también nervios quelicerales, nervios faríngeos y abdominales y otros autores encontraron así mismo un sistema traqueal bien desarrollado.

Aparato genital y diferenciación sexual

El aparato genital del *R. limacum* es el más complejo y extendido dentro del cuerpo. Según TURK y PHILLIPS (1956), el aparato genital de la hembra está integrado por un solo ovario, oviducto y valvas externas. El oviducto sencillo y enrollado conduce a un saco posterior dentro del cual se abre el receptáculo seminal, BAKER por su parte (1969) observó también ovogonias, ovocitos y óvulos en varios grados de desarrollo; el oviducto es recto y la vagina corta y estrecha con un pequeño par de glándulas ovaladas en ella, que por su posición y estructura podrían ser posibles receptáculos seminales. El aparato genital del macho del *R. limacum* consta a su vez de testículos poseyendo espermatozoides flagelados y dos conductos deferentes que se unen formando una vesícula seminal grande. Se encuentra también un conducto eyaculador, una glándula accesoria y un pene desarrollado y esclerosado.

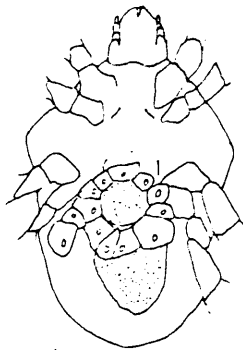
Según BAKER (1970) los machos y hembras son realmente distinguibles uno del otro externamente por la configuración de la abertura genital. La abertura de la hembra es larga y estrecha mientras que el macho

tiene una abertura ovalada más ancha y corta. Tiene a su vez, el macho, un revestimiento más fuertemente esclerosado en esta abertura y posee espículas barbañas en el vestíbulo genital.

El área genital de ambos sexos posee dos pares de ventosas genitales situadas lateralmente en cada uno de los lados de la abertura genital. (FIGURA 2-3)

Basándose en la estructura general de los arácnidos y en todo el estudio anterior FONTANILLAS J.C (1984) esquematizó la anatomía interna del ácaro según se representa en la FIGURA 2-4.

A



B

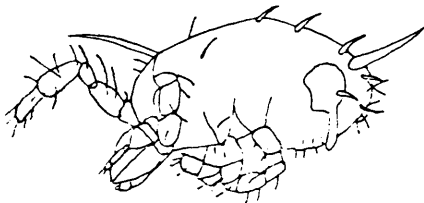


FIG. 2-3. DETALLE DEL APARATO GENITAL DE UN ACARO
A. Hembra en posición ventral
B. Macho en posición lateral

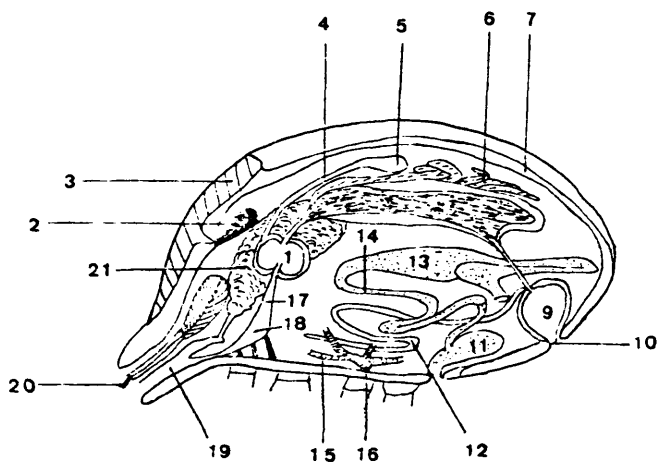


FIG. 2-4. ANATOMIA GENERAL DEL RICCARDOELLA LINACUM

- | | |
|---------------------|----------------------|
| 1. Cerebro | 11. Utero |
| 2. Organo de Gene | 12. Tubo de Malpighi |
| 3. Escudo | 13. Ovario |
| 4. Aorta | 14. Oviducto |
| 5. Corazón | 15. Traqueas |
| 6. Ciegos | 16. Espiráculo |
| 7. Pared del cuerpo | 17. Esófago |
| 8. Intestino | 18. Faringe |
| 9. Recto | 19. Cavidad bucal |
| 10. Ano | 20. Quelíceros. |
| | 21. Glándula salival |

2.1.2. Alimentación del Riccarficella linacum

A lo largo de los diferentes trabajos de investigación citados sobre el *R. linacum*, se encuentran numerosas interpretaciones, incluso contradictorias, acerca del comportamiento de este ácaro. Así pues, sobre su alimentación TURK y PHILLIPS (1946) supusieron que su quelícero era demasiado corto para atravesar la piel del hospedador. Por otro lado S. THOR (1933) afirmaba que era probable que absorbieran los fluidos e incluso LAURENCE (1952) pensó que podría alimentarse de sangre del hospedador. Ninguna de todas estas teorías tenía una base sólida hasta que EAKER (1970) en un extenso trabajo experimental sobre babosas parece haber dejado clara la cuestión. Tras realizar cortes histológicos del ácaro y en especial de su tubo digestivo, identificó mediante tinción de los contenidos fecales, cuerpos esféricos nucleados empaquetados de tamaño entre 5-12 μ , de constitución nucleoproteica, que de hecho eran células, con un citoplasma granular. Estas células, que llenaban las heces del intestino, se encontraban en los ácaros recogidos directamente de las babosas y desaparecían en especies que eran sometidas a dieta. Demostró a su vez, con las mismas técnicas de cortes histológicos y

tinción, que estas células eran idénticas a las existentes en el corazón y tejidos conectivos de las babosas y parecen ser células sanguíneas de los fluidos tisulares de los Gastrópodos. A lo largo de estas investigaciones se pudo observar así mismo la práctica ausencia de secreciones mucosas. Según lo indicado, está claro que el *R. liracum* es un parásito chupador de sangre y no un coneedor de mucina.

Los ácaros forman, según SCHUMACHER y HOEPPLI (1963), un estilosoma en los tejidos del hospedador como resultado de sus actividades glandulares, que ejerce una función mecánica más que química, es decir de fijación al hospedador al mismo tiempo que de paso de saliva y succión del alimento.

Por otro lado teniendo en cuenta que el sistema vascular de los moluscos gastrópodos está constituido por corazón, arterias y venas, y que las venas están unidas entre sí por medio de canales y cavidades formando senos venosos en los cuales, en algunas de sus partes, la sangre llega a estar en contacto directo con las células de los órganos, es razonable pensar que todas estas circunstancias pueden suministrar una fuente de alimento rica y aprovechable por el ácaro.



2.1.3. Ciclo biológico

THOR (1933) describió las características del ciclo biológico de la familia Ereyinetidae, constatando que el desarrollo era simple y directo, refiriéndose a un estadio larvario, exápodo y un estadio ninfal octópodo. Así mismo describía las hembras como ovíparas conteniendo huevos grandes.

Más tarde GRANDJEAN (1939), basando sus estudios sobre determinadas especies libres de esta familia, considera tres estadios sucesivos ninfales entre larvas y adultos. La diferenciación entre los dos estadios primeros la establece por el número de apéndices ambulacrales: seis y ocho respectivamente y los adultos por su abertura genital.

TURK y PHILLIPS, en 1946 en un extenso estudio, referido concretamente al ciclo biológico del *R. limacum*, considera un estadio larvario seguido de dos estadios ninfales llamados protoninfa y deutoninfa los cuales separaba en base a diferencias de tamaño solamente, (unas 30 μ entre cada estadio). Estima también que la deutoninfa es la que posee los huevos siendo pues ovípara o vivípara y nunca encontró óvulos

bién desarrollados en los adultos.

FAH (1957-1962) después de reclasificar la familia en tres subfamilias, en la primera de éstas, la Ereynetidae, describe tres estadios ninfales e indica que el *Riccardoella limacum*, a diferencia de otras especies de la familia es ovíparo.

Basándose en estos trabajos, BAKER (1970) lleva a cabo un amplio estudio experimental e igual que TURK y PHILLIPS (1946), concretamente sobre el *R. limacum*, generaliza sus conclusiones a toda la familia Ereynetidae.. Este autor demuestra, basando sus experiencias en cultivos de laboratorio, la existencia de tres estadios ninfales, de acuerdo con GRANDJEAN (1939) : el protoninfa, el deutoninfa y tritoninfa seguidos por el de hembras y machos adultos. Establece la diferencia entre ellos en base al número y tipo de espículas genitales y agenitales. La protoninfa tiene un par de espículas genitales. La deutoninfa tiene dos pares de espículas genitales y dos agenitales. La tritoninfa tiene cuatro pares de espículas genitales y cuatro agenitales (FIGURA 2-5)

No registra BAKER (1970) sin embargo en la deutoninfa neotenia, es decir una deutoninfa poseyendo huevos como indicaba TURK y PHILLIPS (1946), sino hembras adultas conteniendo óvulos maduros considerándolas solamente ovíparas. Las hembras adultas situadas en células de cultivo ponían huevos uno a uno, blancos nacarados de aproximadamente 180 micras de longitud, que tardan tres días en eclosionar a 20-25°C.

El ciclo biológico de la familia Ereynetidae según lo expuesto puede quedar reseñado según FONTANILLAS (1984) en el esquema de la FIGURA 2-6, es decir, siguiendo el patrón: huevo - larva - protoninfa - deutoninfa - tritoninfa - adulto. Siendo, hasta el momento presente, este patrón el mantenido para el *R. limacum*. (FIGURAS 2-7, 2-8, 2-9 y 2-10)

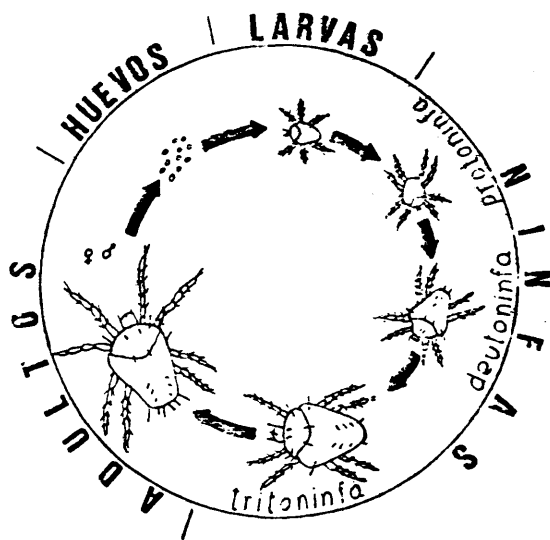


FIG. 2-6. CICLO BIOLOGICO DEL RICCARDOELLA
LIMACUM.

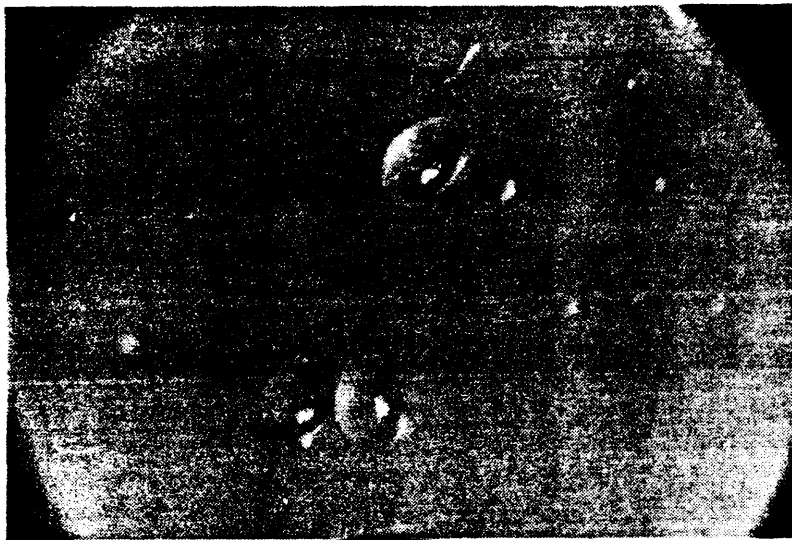


FIG. 2-7 HUEVOS DE RICCARDOELLA LIMACUM
(aumentados 100 veces)

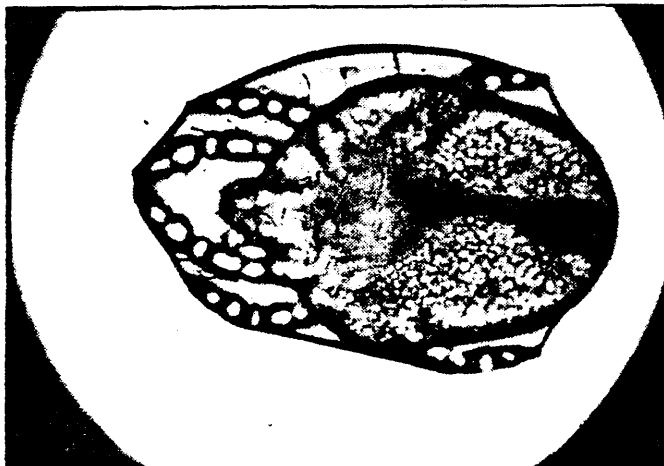


FIG. 2-8 LARVA HEXAPODA DE RICCARDOELLA LIMACUM
(aumentada 300 veces)



FIG. 2-9 NINFAS DE RICCARDOELLA LIMACUM
(aumentadas 75 veces)

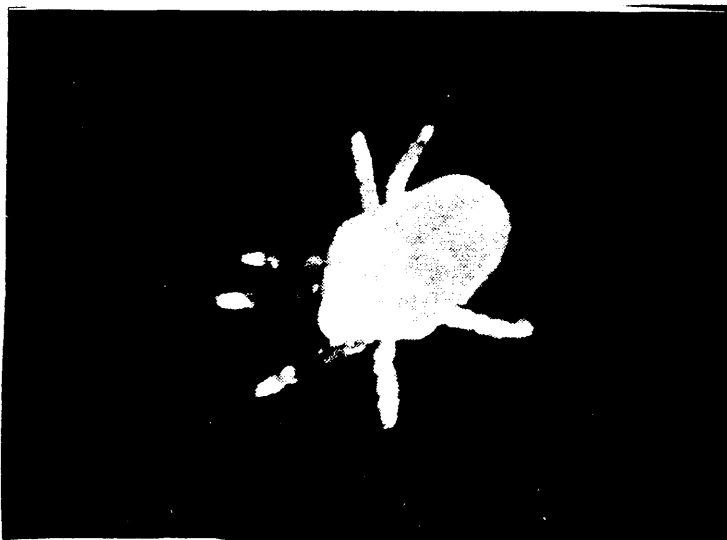


FIG. 2-10 RICCARDOELLA LIMACUM ADULTO
(aumentado 100 veces)

2.2 Aparato reproductor y reproducción del Helix aspersa

La característica más significativa de la reproducción del *Helix aspersa*, radica en la definición del caracol dada por la mayoría de los autores al describirlo como "Hermafrodita insuficiente de fecundación cruzada".

Los primeros estudios serios sobre el aparato reproductor y características de la reproducción de los caracoles aparecen en la década de los años sesenta en los trabajos realizados por HERZBERG, F. y HERZGERG, A. (1962), y los de MARTOJA, M. sobre el desarrollo del aparato reproductor de los gastrópodos pulmonados en 1964. A partir de los años 1980 comienzan a aparecer estudios sobre las características gonadales y parámetros reproductivos encontrándonos con publicaciones como las de GRIFFOND, B y BRIDE, J (1981) en las que hace referencia a estudios histológicos y ultraestructurales de las gónadas del *Helix aspersa* Müller en el momento de la eclosión o los de BOLE-RICHARD, M-A. y GRIFFOND, B. (1982), en los que estos autores efectúan un amplio e importante estudio experimental, en órdenes cualitativos y cuantitativos,

sobre las proteínas gonadales durante las fases de la reproducción del *H. aspersa* mediante electroforesis.

Los estudios más recientes en relación con este tema concreto son los de DAGUZAN, J. y col. (1983-1984) y los de LUCARZ, A. (1984) sobre la relación existente entre la densidad de población de estos moluscos y sus puestas.

Aunque de todos los trabajos consultados sobre la reproducción del caracol, se deduce que los Moluscos Gastrópodos se presentan como hermafroditas insuficientes de fecundación cruzada con tendencia protándrica, en las observaciones llevadas a cabo a lo largo de los trabajos efectuados por FONTANILLAS, J.C. (1984-1985) sobre reproducción, del *H. aspersa*, se ha podido constatar que la tendencia protándrica citada no se muestra en este molusco, ya que es capaz de producir simultáneamente y de forma indistinta gametos masculinos y femeninos lo que conlleva un hermafroditismo cruzado.

Como precedentemente hemos indicado, el aparato reproductor es el órgano más voluminoso y complicado de los helícidos. Para su estudio lo podemos

considerar dividido en tres partes: inicial, intermedia y terminal.

La porción inicial la constituye el ovotestis o glándula hermafrodita, productora de gametos masculinos y femeninos indistintamente, el canal hermafrodita, la cámara de fecundación y la glándula de la albúmina.

La porción intermedia está constituida por el ovispermiducto, formado así mismo por la yuxtaposición del oviducto y el espermiducto, que posteriormente se separan en su tercio distal. El espermiducto da lugar, por una parte, al canal deferente que termina en el pene y por otra parte, a un conducto ciego helicoidal largo y fino denominado flagelo en el que se forma los espermátóforos. El oviducto termina en una cámara en la que confluyen o desembocan las glándulas multífidas y el receptáculo seminal o espermateca. La bolsa del dardo se sitúa junto a la cámara en la que termina el oviducto y posee en su interior un dardo calcáreo con forma de aguja prismática cuya función es la de excitación y fijación durante la cópula.

La porción terminal está formada por la vagina, vestíbulo genital común tanto a los conductos genitales masculinos como femeninos. La vagina desemboca en el orificio genital situado cerca de la base del tentáculo ocular derecho.

En la FIGURA 2-11 se representa en detalle el aparato genital en donde se puede apreciar la situación de cada una de las partes descritas.

La fisiología de la reproducción del *H. aspersa*, al igual que su aparato reproductor, es una de las más complejas de los helícidos dado el tipo singular de reproducción de estos moluscos.

Aunque el caracol es hermafrodita, la fecundación requiere indispensablemente una cópula recíproca.

La edad de madurez sexual depende, esencialmente, de la temperatura, humedad y luminosidad ambientales, así como de la época de nacimiento. El caracol común (*Helix aspersa*) alcanza la madurez sexual a los ocho meses aunque no se reproduce hasta los doce o catorce meses, en estado libre. (BAGNAR y BODCIS 1976

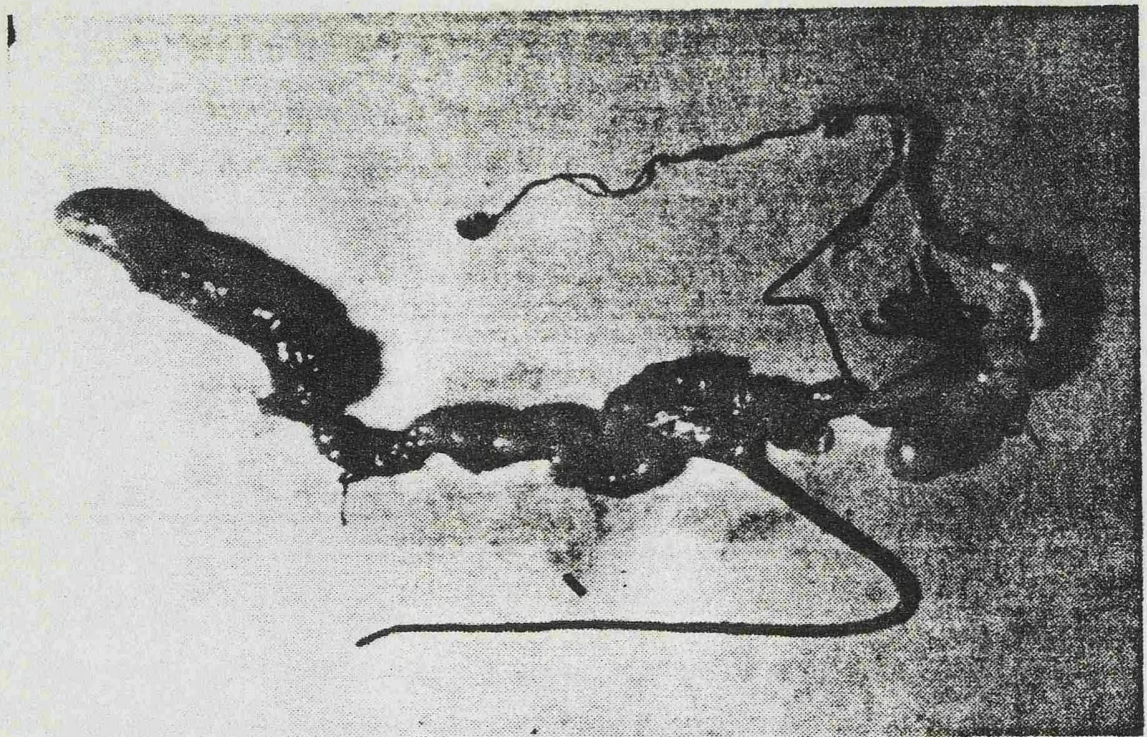
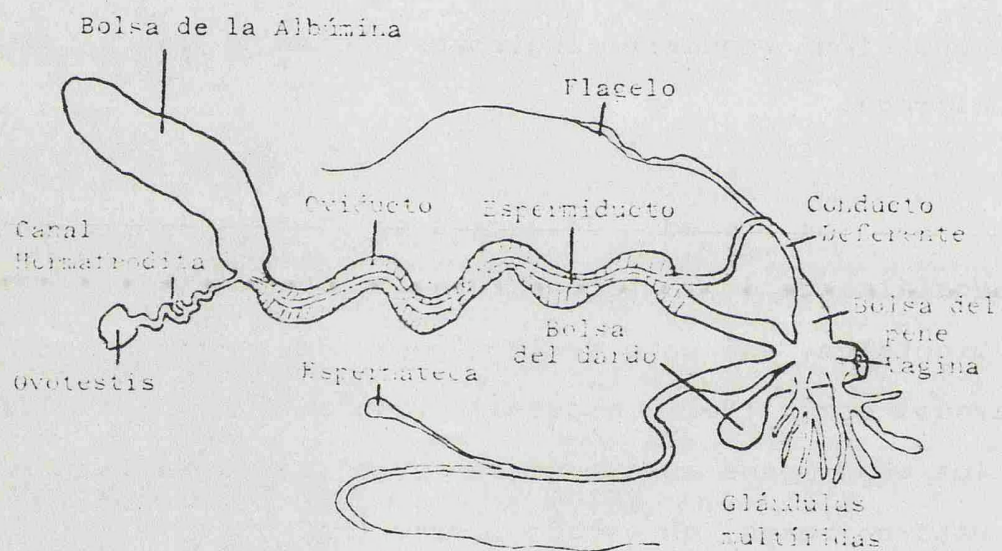


FIG. 2-11 APARATO GENITAL DEL HELIX ASPERSA



ESQUEMA DE LAS PARTES CONSTITUYENTES DE LA FIG. 2-11

CADART 1975, CHEVALLIER 1979, GARNIER 1978, MAINARDI 1977, PAQUIER 1976, PARDO 1943, ROBY 1979).

La reproducción de los caracoles comprende las cinco fases siguientes:

- 1) Cópula.
- 2) Fecundación.
- 3) Posta.
- 4) Incubación.
- 5) Eclosión.

La cópula va precedida de un periodo preliminar durante el cual los dos animales se reconocen y se frotan repetidamente con las rádulas, adoptando una postura horizontal en direcciones opuestas (Chevalier 1979, Barrier 1980, Mioulane 1980, Cuellar 1985).

Estos movimientos facilitan con el concurso de una sustancia mucosa, segregada por las glándulas multífidas, la salida de los dardos calcáreos de sus bolsas, que actúan recíprocamente como órganos excitadores y de anclaje. El pene de cada uno de los dos individuos se mueve libremente y penetra en la vagina del congénere, merced a la acción de los músculos

peneanos y a su propia estructura, y en cuyo momento se produce la introducción del espermatóforo. La duración media de la cópula, según algunos autores es de 10 horas con variaciones de especie y de individuo (RCBY 1979, CHEVALLIER 1979, MIOULANE 1980).

La fecundación es un proceso largo y complejo. Los espermatozoides formados en el ovotestis llegan al pene a través de canal hermafrodita, aglutinándose en el flagelo para formar el espermatóforo con el aporte de una secreción glandular de naturaleza prostática. El espermatóforo está constituido por un estuche alargado cartilago-quitinoso que contiene los espermatozoides. Durante la cópula, cada animal introduce dicho espermatóforo en el orificio genital del otro participante. (ROUSSELET 1978, BRIDE y GRIFFOND 1981, MANN 1984, CUELLAR CUELLAR 1985).

Los espermatozoides una vez liberados de su estuche se almacenan en el canal del receptáculo seminal o en el divertículo del citado canal donde permanecen durante poco tiempo, ya que enseguida alcanzan la espermateca y desde allí se dirigen hacia la cámara de fecundación situada en la parte final del canal hermafrodita. (CADART 1975, ROUSSELET 1978,

HARTWIG y col 1981, MANN 1984, CUELLAR CUELLAR 1985).

Los óvulos elaborados en el ovotestis una vez que llegan a la cámara de fecundación a través del canal hermafrodita, se unen a los espermatozoides almacenados que han discurrido por el tracto genital. (GOMOT 1973, CADART 1975, ROUSSELET 1978, CUELLAR CUELLAR 1985).

Los óvulos fecundados o huevos, se acumulan en el canal festoneado donde son rodeados por una capa de albúmina segregada por la glándula de igual nombre y más tarde por una cubierta calcárea blanquecina que procede de las glándulas multífidas y que se endurece en contacto con el aire. (CADART 1975, ROUSSELET 1978.)

La puesta se efectúa después de la cópula, debiendo trascurrir un lapso de tiempo variable. Este espacio de tiempo entre cópula y puesta oscila entre 6 y 8 días según CADART 1975, PAQUIER 1976 y JOSA 1980, mientras que según PARDO 1943, BAGNAR y BONDOIS 1976, MAINARDI 1977, GALLO 1980 y BARRIER 1982, el periodo es de 15 a 20 días. Para CHEVALLIERE (1977) Y ROUSSELET (1982) es variable según las condiciones ambientales.

Para realizar la puesta, el caracol excava un agujero o nido con ayuda de la parte anterior del pié e propodio formando una cámara esférica de paredes lisas y sólidas precedida de una antecámara estrecha en forma de embudo. Las dimensiones son de 3 a 4 cm. de profundidad con un diámetro mayor de 3 cm. (PAQUIER 1976 y BLINEAU 1980).

Seguidamente una vez completada la cavidad, el animal introduce en esta toda la parte anterior del pié y deposita los huevos con intervalos comprendidos entre 5 y 20 minutos, en un total muy variable que oscila entre 50 y 200. Terminada la puesta el caracol obtura el nido con los detritus de la excavación precedente. El número de huevos por puesta es variable en los diversos trabajos revisados, y así MAINARDI (1977) y CHEVALLIER (1979) afirman que varía entre 60 y 150, DAGUZAN (1980) entre 80 y 140, PARDO (1943) y ROBY (1979) entre 100 y 200, GARNIER 1978 propone 60 huevos como media y VILADEVAL (1983) dice ser de 50 a 110. (FIGURA 2-12)

La duración de la puesta varía según el número de huevos liberados. Según CHEVALLIER (1979) y PAQUIER (1976) entre 24 y 30 horas.

La cubierta externa del huevo está impregnada de compuestos calcáreos. El interior del huevo está formado por una capa interna fina, una membrana hialina y un acúmulo de albúmina en cuyo seno se encuentra la cicatrícula o disco germinal (ROUSSELET 1978)

La incubación tiene una duración variable, siendo para la mayoría de los investigadores como PARDO (1943), PAQUIER (1976), ROUSSELET (1978), ROBY (1979), BLINÉAU (1980), JOSA (1980) y MIOULANE (1980) de 15 a 30 días. CHEVALLIER (1979), asegura que varía entre 10 y 45 días, dependiendo de diversos factores como son la temperatura, humedad, especie y variedad. Para BAGNAR y BONDOIS (1976) el término medio viene siendo de 10 a 20 días. DAGUZAN (1980), señala el tiempo de eclosión en 22 días con oscilaciones de 14 a 30 días.

La eclosión tiene lugar merced a la rotura y destrucción inducida de la cubierta externa cuando el embrión se ha desarrollado y ocupa todo el espacio interior del huevo. Una vez liberado, el caracol juvenil provisto de una fina concha embrionaria permanece de 5 a 10 días en la cámara de incubación alimentándose de los restos de la cubierta calcárea.

- 56 -

(ROUSSELET 1978, NICOLANE 1980, CUELLAR CUELLAR 1985).
(FIGURA 2-3).



FIG. 2-12 HELIX ASPERSA REALIZANDO LA PUESTA

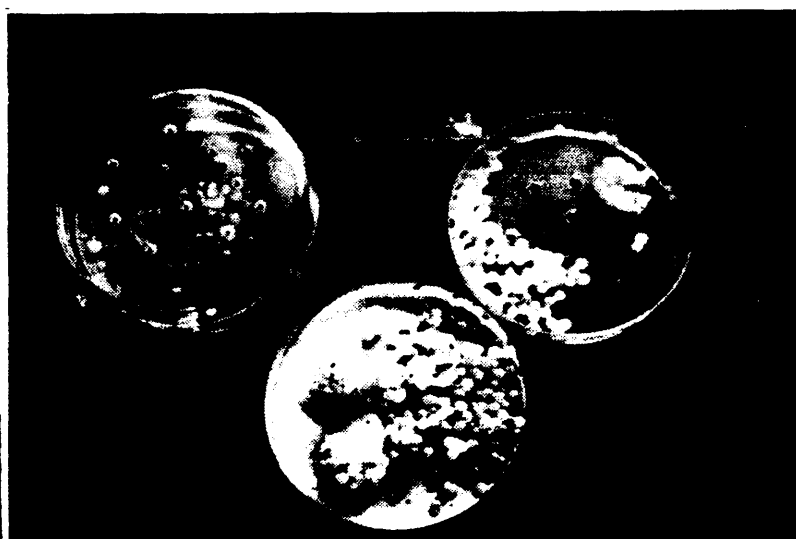


FIG. 2-13 PUESTAS DE HELIX ASPERSA EN PLACAS DE
PETRI PERFORADAS

3. MATERIAL Y METODOS

3. MATERIAL Y METODOS

3.1 Hábitat y comportamiento del Riccardoella limacum en relación con el Helix aspersa

Teniendo en cuenta que el *R. limacum* es hematófago, según demostró BAKER, y que la cavidad paleal de los caracoles, exactamente en su cara parietal, posee una gran ramificación de capilares sanguíneos, prácticamente superficiales y además el hábitat de cualquier individuo guarda siempre estrecha relación con su sistema de alimentación, consideramos que la cavidad paleal ha de ser sin duda un lugar preferencial de concentración de los ácaros y obviamente de interés primordial para su estudio.

Para el estudio que a continuación vamos a detallar, se ha empleado como instrumento fundamental de observación un microscopio binocular Reichert-Biovar y una lupa binocular Leitz-Wetzlar, así como material adecuado de disección y general de laboratorio cuyas características vienen indicadas en el anexo I.

Observación y recuento de ácaros: Para verificar el recuento de ácaros, tanto en la región indicada como en su parte externa, se procedió al sacrificio de los caracoles previa preparación.

Antes de proceder al sacrificio se aislaba, un número variable de caracoles, en cajas de metacrilato de dimensiones adecuadas. Seguidamente se les sometía, mediante reducción de la humedad al 50% y supresión del alimento, a un estado de aletargamiento durante unos diez días, consiguiendo así la operculación del caracol, con lo cual se crea una barrera que impide la fuga de parásitos.

El sacrificio de los caracoles, se llevó a cabo por congelación en cámara frigorífica a -25°C durante una hora. Mediante la congelación se produce una muerte rápida, no traumática, evitando por tanto la producción de secreción mucosa que podría arrastrar, sin duda, gran cantidad de ácaros.

El recuento externo se realizó mediante lupa binocular a 15 aumentos.

Para hacer el recuento de ácaros existentes dentro de la cavidad paleal se procedió a realizar zootomías de los animales sacrificados, previa descongelación, según detallamos seguidamente.

Previamente se extrajo el caracol de su concha, para lo cual se corta la concha con unas tijeras de disección, comenzando por el estoma (junto al ombligo) siguiendo la línea de sutura hasta llegar a la primera espira según se indica en la FIGURA 3-1a. Una vez extraído el cuerpo del caracol se coloca sobre un vidrio de reloj, en donde al hacer la disección, quedará retenida la secrección mucosa. Seguidamente se abre la cavidad paleal e introduciendo la punta de las tijeras por el pneumostoma, se sigue la línea de sutura hasta descubrir la glándula de la albúmina (FIGURA 3-1b y c). En este momento se procede a abrir la cavidad paleal (FIGURA 3-1d) y a observar mediante lupa binocular a 15 aumentos los ácaros que se encuentran en esta cavidad y así mismo los arrastrados por la secrección mucosa que se encuentran recogidos en el vidrio de reloj.

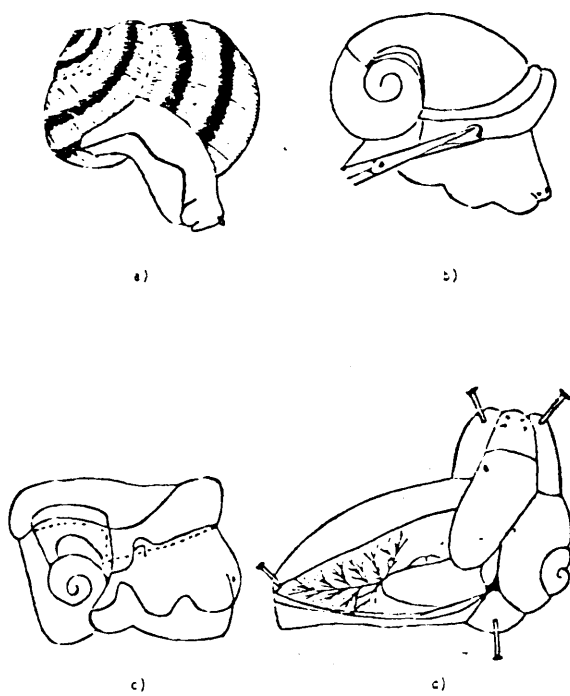


FIG. 3-1 ZOOTOPIA DE UN CARACOL

- a) Extracción de la concha
- b) Corte transversal y longitudinal del manto
- c) Apertura de la cavidad paleal

Localización del ácaro en la cavidad paleal

Con el fin de estudiar detalladamente las localizaciones del *R. limacum* en el interior del caracol y, concretamente en su cavidad paleal, los puntos de máxima infestación y formas de sujeción, se procedió a realizar zootomías seriadas de doscientos caracoles cuyo proceso pasamos a describir.

Primeramente se sacrificó a los caracoles por el método expuesto anteriormente de congelación a -25°C . Una vez sacrificados y descongelados se extrajo el caracol de su concha, por tracción, rompiendo el músculo columelar, o bien siguiendo el procedimiento descrito igualmente en el párrafo anterior. Extraído el cuerpo, con las tijeras de disección se practicó una incisión sobre el anillo del peristoma en sentido paralelo a éste, procurando no cortarlo. Seguidamente se extrajo un trozo de la pared parietal de la cavidad paleal lo más grande posible, sin interesar el tejido muscular. La fina sección extraída se colocó sobre un portaobjetos procurando que la red capilar perteneciente a la cavidad paleal quede hacia arriba. Entonces se vierte sobre la preparación una gota de lactofenol de Amman, como sustancia aclaradora, y

después de colocar el cubreobjetos se hizo la observación de la misma al microscopio.

El resto del cuerpo del caracol, que previamente fue depositado en un vidrio de reloj, se observó con lupa binocular, y con microscopio la secreción mucosa recogida en el vidrio.

Simultáneamente se procedió a la preparación de cortes por la técnica de parafina siguiendo fielmente la sistemática descrita en el Tratado de Histología de Arthur W. HAM, seguido de su tinción por el método de Hematosilina-Eosina cuyos pasos fundamentales esquematizamos a continuación:

- 1) Fijación de la muestra en formol durante tres días.
- 2) Lavado seguidamente con alcohol de 90%.
- 3) Deshidratación durante 24 horas por pases sucesivos en alcoholes de diferentes graduaciones ascendentes, finalizando con alcohol absoluto.
- 4) Introducción en xilol y parafina durante varias horas una vez sacada la muestra del alcohol absoluto.

- 5) Finalmente se dejó en reposo durante 24 horas en parafina fundida.

Terminado el proceso y mediante un microtomo de parafina, se realizaron los cortes convenientes y se procedió a la tinción de los mismos con hematosilina-eosina en solución acuosa. Una vez teñidos los cortes se pasaron por alcoholes de concentración creciente hasta alcohol absoluto y, finalmente, por xilol. Seguidamente se montaron en medio soluble en xilol, se colocaron cubreobjetos, comprimiéndolos fuertemente y se procedió a su observación en el microscopio con aumentos crecientes.

Estos recuentos han sido efectuados sobre una población de trescientos caracoles de distintos orígenes y hábitats. Cien fueron tomados en el campo en la provincia de Valladolid. Otros cien de éstos procedían de explotaciones extensivas, habiendo sido adquiridos en el Mercado Central de Pescados de Madrid. Los cien restantes pertenecientes a la explotación controlada experimental de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid.

- 76 -

Se obtuvo un valor promedio de ácaros por cada uno de los lotes mencionados, encontrados tanto en su parte externa como en su cavidad palcal y en su totalidad.

3.2. Influencia del Riccardoella limacum (Schrank) en la reproducción del Helix aspersa (L.)

3.2.1 Estudio comparativo de los parámetros reproductivos del Helix aspersa en caracoles sanos y parasitados por el Riccardoella limacum

Para llevar a cabo el estudio de la influencia de la parasitación del R. limacum en la reproducción del H. aspersa, se procedió a determinar los parámetros reproductivos más característicos y llevar a cabo el control de los mismos en caracoles sanos y en caracoles parasitados, a partir de cuyos valores se podrían obtener resultados de interés sobre la citada influencia del ácaro en la reproducción.

Este estudio se ha realizado durante un periodo de nueve meses en las dependencias del vivario de la Cátedra de Biología de la Facultad de Veterinaria de Madrid.

Se han utilizado para ello cien caracoles Helix aspersa variedad máxima sanos obtenidos por

hibernación controlada siguiendo minuciosamente el método de erradicación de este ácaro estudiado por FONTANILLAS (1934) y cien caracoles parasitados por el *Riccardoella limacum*, distribuidos en dos grupos de cincuenta lotes de dos caracoles cada uno, convenientemente marcados y mantenidos en cajas de metacrilato de metilo de (30 x 20 x 15 cm.) con perforaciones laterales que permiten el intercambio gaseoso y el equilibrio térmico con el medio ambiente. La sala vivario se ha mantenido a una temperatura entre 18 y 20°C. La humedad relativa en las cajas fue del 90% mantenida con papeles de filtro humedecidos colocados en el fondo de las mismas. En su interior se dispusieron los comederos y los recipientes de puesta conteniendo una mezcla homogénea de tierra y arena al 50 por ciento, humedecida para facilitar la oviposición de los caracoles. Esta tierra se cambiaba semanalmente para impedir la proliferación de hongos o parásitos que pudieran afectar a las puestas.

Para un mejor entendimiento de estos controles y establecimiento de los valores experimentales obtenidos, se inició la sistemática experimental partiendo de los parámetros básicos, y una vez

determinados éstos, se obtuvieron a partir de ellos, los parámetros funcionales relacionados con aquellos.

Como Parámetros reproductivos básicos se han considerado en este estudio los siguientes:

Número de individuos

Número total de puestas

Número total de puestas dobles

Peso total de las puestas

Tiempo medio entre cópula y puesta

Tiempo medio de incubación

Los valores de estos parámetros fueron los obtenidos por observaciones directas durante los nueve meses que duró la experiencia. A lo largo de la misma se controló diariamente la presencia de cópulas y de puestas y el tiempo transcurrido entre ambas, así como el peso de las puestas y el tiempo de incubación. Se comprobó también la existencia, tras una sola cópula, de la presencia de una puesta de cada caracol.

Para evitar el peligro que supone la manipulación del conteo de los huevos de las puestas,

para el desarrollo de los embriones, se consideró apropiado expresar el valor cuantitativo de la puesta en peso (granos), dada la aceptable correlación existente entre el número de huevos y el peso de los mismos.

A partir de estos parámetros básicos fueron obtenidos todos los otros funcionales, por medio de las sencillas relaciones matemáticas que expresamos a continuación:

NUMERO DE PUESTAS POR INDIVIDUO= n° total de puestas/
 n° total de individuos

PESO MEDIO DE LAS PUESTAS= peso total de las puestas/
 n° total de puestas

PESO TOTAL MEDIO DE PUESTAS POR INDIVIDUO=(peso medio
de las puestas).(n° medio de puestas/individuo)

PORCENTAJE DE PUESTAS DOPLES= $100(n^{\circ}$ total de puestas
dobles)/ n° total de puestas

Siguiendo la misma sistemática ya descrita repetimos la experiencia con caracoles altamente parasitados partiendo de los cincuenta lotes de dos caracoles cada uno. Como en la experiencia anterior establecimos rigurosos controles diarios de peso puestas, cópulas, etc.

3.2.2 Estudio espermático comparativo del *Helix aspersa* en caracoles sanos y parasitados por el *Riccardoella limacum*

- A) Localización del semen
- B) Características espermáticas y ultraestructurales
- C) Recuento espermático

A) Localización del semen

Dado que en la bibliografía consultada no existe ninguna referencia específica sobre este tema, hemos procedido a estudiar las localizaciones de semen en el aparato reproductor del caracol y a establecer las características y concentraciones espermáticas fisiológicas de la especie y posteriormente a su

estudio comparativo con animales parasitados.

Se trabajó con cien caracoles sanos, *H. aspersa* variedad máxima, obtenidos igual que los de la experiencia anterior por hibernación (FONTANILLAS 1964) y mantenidos igualmente en ambiente controlado en la sala vivario de la Cátedra de Biología de la Facultad de Veterinaria de Madrid.

Con el fin de estudiar posibles alteraciones, tanto morfológicas como estructurales, del aparato reproductor del *H. aspersa* o de alguna de sus partes, así como para establecer el lugar idóneo para la recogida de semen, se inició el estudio experimental de dicho aparato con ayuda de lupa binocular, microscopio óptico y electrónico y mediante preparaciones histológicas de las distintas partes del mismo.

Para el citado estudio se llevaron a cabo zootomías en veinte individuos sanos. Para las zootomías y extracciones del aparato genital se siguió la sistemática que indicamos a continuación:

Se sacrifica a los animales mediante congelación a

-30°C durante una hora. Tras su descongelación, se extrae el cuerpo del caracol por rotura del músculo columelar mediante tracción. Una vez separado el cuerpo de la concha se procede a abrir la cavidad visceral del caracol con ayuda de unas tijeras de disección dando un corte transversal a partir del pneumostoma y otro longitudinal a lo largo de la línea de sutura hasta llegar a la última porción del hepatopáncreas, dejando al descubierto todo el aparato reproductor, procediendo entonces a su extracción.

El aparato reproductor extraído se coloca ya sea sobre una placa de Petri, para la observación con lupa binocular o se introduce en un fijador para su inclusión en parafina y realización posterior de cortes histológicos, siguiendo el procedimiento de Ham especificado en el APARTADO 3.1.

Efectuado el estudio con microscopio óptico de estas preparaciones se establecieron las diferencias histológicas entre las distintas partes (FIGURAS 3-2 a la 3-5) y la presencia o ausencia de espermatozoides o células sexuales en la luz del tracto reproductor.

Para la observación con lupa binocular se seccionó longitudinalmente la vagina, bolsa del dardo y



FIG. 3-2 - CORTE HISTOLOGICO DE LA GLANDULA
DE LA ALBUMINA

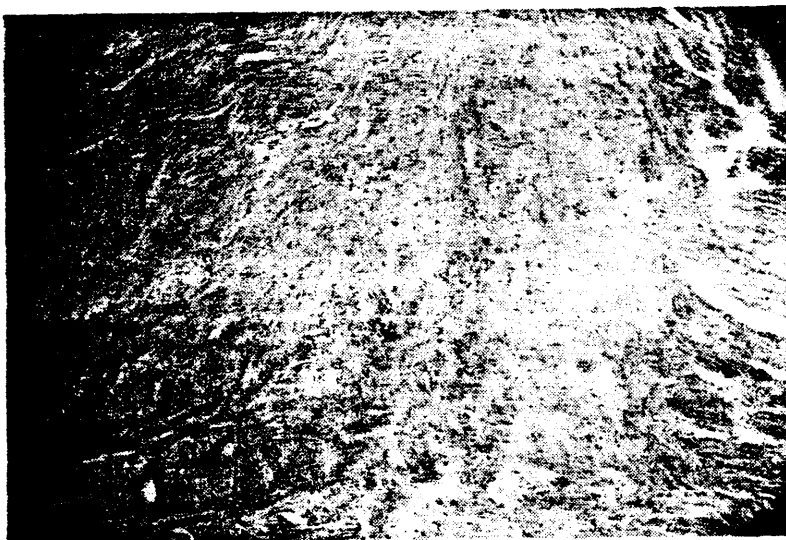


FIG. 3-3 CORTE HISTOLOGICO DE LA BOLSA
DEL DARDO

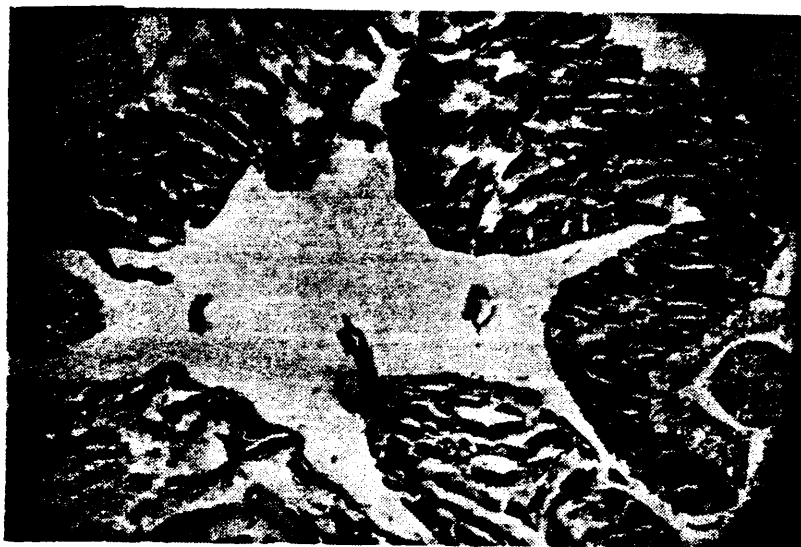


FIG. 3-4 - CORTE HISTOLOGICO DEL OVIDUCTO



FIG. 3-5 - CORTE HISTOLOGICO DEL OVISPERRIDUCTO

del pene, oviducto, espermiducto y receptáculo seminal, examinándolo detenidamente entre 10 y 65 aumentos y comprobando las características de sus mucosas y la presencia de espermatozoides.

Con el fin de detectar mejor la presencia de semen en alguna de estas zonas, se hicieron simultáneamente raspados de cada una de las partes y se observaron con microscópio óptico, encontrándose algún espermatozoide aislado únicamente en las partes altas del oviducto y espermiducto.

Para el estudio del ovotestis y del canal hermafrodita utilizamos, dada su estructura, un microscopio binocular Reichert Biohar. Se hicieron preparaciones del ovotestis mediante compresión entre porta y cubre y se examinó el contenido del canal hermafrodita mediante compresión de sus paredes. Así mismo se hicieron preparaciones de microscopia electrónica observando su estructura y contenido.

B) Características espermáticas y ultraestructura de los espermatozoides de *Helix aspersa*

Para establecer las características espermá-

ticas y ultraestructurales de los espermatozoides seguimos dos caminos distintos:

- a) Observaciones microscópicas de extensiones de es-perma obtenido del canal hermafrodita.
- b) Estudio con microscopio electrónico de los espermatozoides existentes en el ovotestis y en el canal hermafrodita.

Las características espermáticas definidas en este estudio han sido la motilidad y la morfología.

Para la obtención del esperma, requisito imprescindible para su valoración, se procedió a la realización de zootomías, pero en este caso sin previo sacrificio del caracol teniendo en cuenta la escasa sensibilidad de estos moluscos, a fin de evitar daños en el esperma según el procedimiento siguiente:

Se separa previamente el cuerpo de la concha, para lo cual se introduce la punta de unas tijeras de disección entre ambas y se corta la concha comenzando por el estoma, junto al ombligo, siguiendo la línea de sutura hasta llegar a la primera espira según se indica

en la FIGURA 3-1a. Una vez extraído el cuerpo del caracol se localiza externamente el canal hermafrodita situado en la cara interna de la primera espira. Una vez localizado éste, se incide con la punta de las tijeras de disección en la pared del saco visceral, dejando al descubierto dicho canal. Con ayuda de unas pinzas de disección se separa del ovotestis y, posteriormente, de la cámara de fecundación y se coloca sobre un portaobjetos.

Manteniendo pinzado este canal por su extremo caudal, se presiona con una lanceta de disección progresivamente provocando la salida del semen, el cual queda depositado sobre el portaobjetos.

El semen se recoge con una pipeta capilar de conteo de hematíes y se diluye en suero fisiológico a una dilución aproximada de 1/2.000.

Para observar la motilidad individual se utilizaron las técnicas de gota pendiente y entre porta y cubre, procediendo a hacer las observaciones microscópicas pertinentes.

Para el estudio morfológico se tiñeron los

espermatozoides con eosina y se hicieron extensiones en porta procediendo a su observación con microscopio óptico a 100 y 400 aumentos.

Para determinar la ultraestructura de los espermatozoides fue necesario recurrir al microscopio electrónico. Para ello se hicieron preparaciones de microscopia electrónica siguiendo la técnica habitual de inclusión en parafina, previa deshidratación con alcoholes, ya descrita anteriormente.

C) Recuento de espermatozoides

Para el recuento de espermatozoides, el semen se obtuvo siguiendo la técnica ya descrita anteriormente en el estudio de las características espermáticas y morfología de los espermatozoides.

Antes de proceder a la extracción del semen, se mantenían los caracoles 15 días en lotes de un solo individuo, periodo que consideramos idóneo, para evitar posibles cópulas, ya que de producirse influirían notablemente en los datos obtenidos.

Para la preparación de la dilución 1:2.000, necesaria para el correcto contaje, se utilizaron



pipetas de conteo de hematies.

El recuento se hizo a partir de la dilución indicada 1:2.000 con una cámara de Bürker en la retícula mayor, dada la extraordinaria longitud de los flagelos.

Para establecer las concentraciones por individuo se utilizaron 100 caracoles H. aspersa variedad máxima sanos se utilizaron cuatro cámaras por cada uno de ellos, con un total de cuatrocientos recuentos que, considerando el valor medio de las cuatro cámaras, condujo a 100 valores de recuento.

El estudio de caracoles parasitados se hizo sobre dos lotes de cien caracoles cada uno. Uno de ellos con caracoles con una concentración de ácaros en su cavidad paleal variable entre 25 y 50 individuos y el otro lote con caracoles con una concentración de ácaros también en su cavidad paleal variable entre 50 y 100 individuos.

No fue posible realizar el estudio con caracoles cuya concentración parasitaria fuera mayor a 100 ácaros dada la inexistencia de espermatozoides en

en su canal hermafrodita.

Una vez extraído el semen, se hacía un recuento de los ácaros existentes en su cavidad paleal según indicamos a continuación y se procedió, a partir del recuento, a hacer la selección de los caracoles en los lotes respectivos.

Extraído el esperma tal y como indicamos anteriormente, se coloca el cuerpo del caracol sobre un vidrio de reloj, donde al hacer la disección, quedará retenida la secreción mucosa. Seguidamente se abre la cavidad paleal introduciendo la punta de las tijeras por el pneumostoma, siguiendo la línea de sutura hasta descubrir la glándula de la albúmina. En este momento se procede a abrir la cavidad paleal y a observar mediante lupa binocular los ácaros que se encuentran en esta cavidad y, así mismo, los arrastrados por el moco que se encuentra recogido en el vidrio de reloj.

Establecidos los lotes, se efectuó el recuento de espermatozoides en cada uno de los caracoles de cada uno de los lotes, procediendo tal y como se llevó a cabo con el lote de los sanos. El número de recuentos en este caso ascendió a 800, siendo

- 92 -

400 por cada lote e igualmente se efectuó con los valores el estudio estadístico de los mismos.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 Hábitat y comportamiento en relación con el Helix aspersa

Los resultados obtenidos en el recuento de ácaros efectuado tanto en la parte externa como en la cavidad paleal del *Helix aspersa* en distintos tipos de hábitats vienen expresados en la tabla 4-1,

Del estudio minucioso de las preparaciones obtenidas, tanto directamente, como por la técnica de la parafina según hemos expuesto, llegamos a los siguientes resultados:

- Los ácaros se encuentran anclados principalmente en la pared parietal de la cavidad paleal y el anclaje se realiza mediante la garra existente en el final de sus extremidades.
- Los estadios larvarios en muda se encuentran emplazados entre las fibras musculares de la cavidad paleal, sobre todo en su cara parietal.

- Los huevos, al igual que las larvas, son similarmente depositados entre las fibras musculares y también en los repliegues de la cavidad paleal.
- Cuando el grado de infestación es maxivo, los huevos por carencia de espacio material, se encuentran flotando en el moco de la cavidad paleal, pudiendo entonces ser facilmente arrastrados al exterior.

TABLA 4-1

PROMEDIO DE ACAROS ENCONTRADOS EN LA PARTE EXTERNA Y
CAVIDAD PALEAL DE LOS CARACOLLES INFESTADOS EXAMINADOS

Habitat	Estado libre	Explotaciones naturales	Explotaciones controladas
Caracoles infest.	100	100	100
Acaros encontrados			
En el exterior	330	442	1158
Acaros encontrados			
En la cavidad paleal	950	1183	3850
Acaros encontrados			
Totales	1280	1625	5008

4.2. Influencia del Riccardoella limacum (Schrank) en la reproducción del Helix aspersa (L.)

4.2.1 Estudio comparativo de los parámetros reproductivos del Helix aspersa en caracoles sanos y parasitados por el Riccardoella limacum

Para el total de los cien individuos que integran la experiencia el número total de puestas fue de 291 y el número total de puestas dobles de 38.

El peso total de las puestas obtenidas a lo largo de la experiencia fue de 1.439,7g.

En las tablas 4-2,4-3,4-4 y 4-5, vienen indicados los valores de los pesos acumulativos de las puestas por día, mes y periodo total de experiencia, tanto en caracoles sanos como en caracoles parasitados.

La razón de indicar estos valores acumulativos, es debido a poder establecer a posteriori

un criterio comparativo para cada uno de estos periodos, entre caracoles sanos y contaminados.

El tiempo medio entre cópula y puesta observado fue de 14 días y el tiempo medio de incubación de 9 días.

Teniendo en cuenta que el incremento de parasitación que tiene lugar a lo largo de la experiencia, va originando a un índice creciente de mortalidad, y disminuyendo por tanto, sistemáticamente el número de individuos (ver tabla 4-6), se ha procedido a título comparativo, a dar dos valores a todos los parámetros en los que interviene el número total de éstos. Uno de estos valores es el obtenido considerando el número de caracoles iniciales o de partida, y el otro el obtenido del valor suma promediado por mes, teniendo en cuenta el número medio de individuos existentes por mes a considerar. (TABLA 4-7)

Los valores de los restantes parámetros se hayan incluidos en una tabla global junto con los anteriormente indicados y los histogramas explicativos, reunidos todos para un mejor estudio comparativo y

TABLA 4-2.

PESOS ACUMULATIVOS DE LAS PUESTAS POR DIAS EN
CARACOLLES SANOS

DIA	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN
1					63	9,1			
2			11,1			7,6			
3			18,8						
4					77,1	5,3			
5					92,1		2,6		
6		43,1	50		41	13,3	5,8		
7			10,8		92				
8									
9			4,5	3,6				5,3	
10			9,6	9,5					
11			12,6			13,3			
12		22,8	41,5		16	17,8			
13		28			16,3				
14		6,6		6,8		7,5	9,1		
15		10,6		13,3	16				
16		5,5		9,3			17,5		
17									
18				17,7	41,1				
19		29,1			15,8	14,1			
20					5,5	26,3			
21		23,6	10,6	4	5,8				
22		8,8	9,1	37	5,1		26,6		
23		19,3	5,8	0,8					
24				1,6					
25					10	15,6			
26				1,3	9,3	10,1			
27		71,5			5	15,3			
28		36,1							
29		53,1		17,6					
30		5,6		20,8			4		

TABLA 4-3.

PESOS ACUMULATIVOS DE LAS PUESTAS POR DIA EN
CARACOLES PARASITADOS

[illegible]

TABLA 4-4

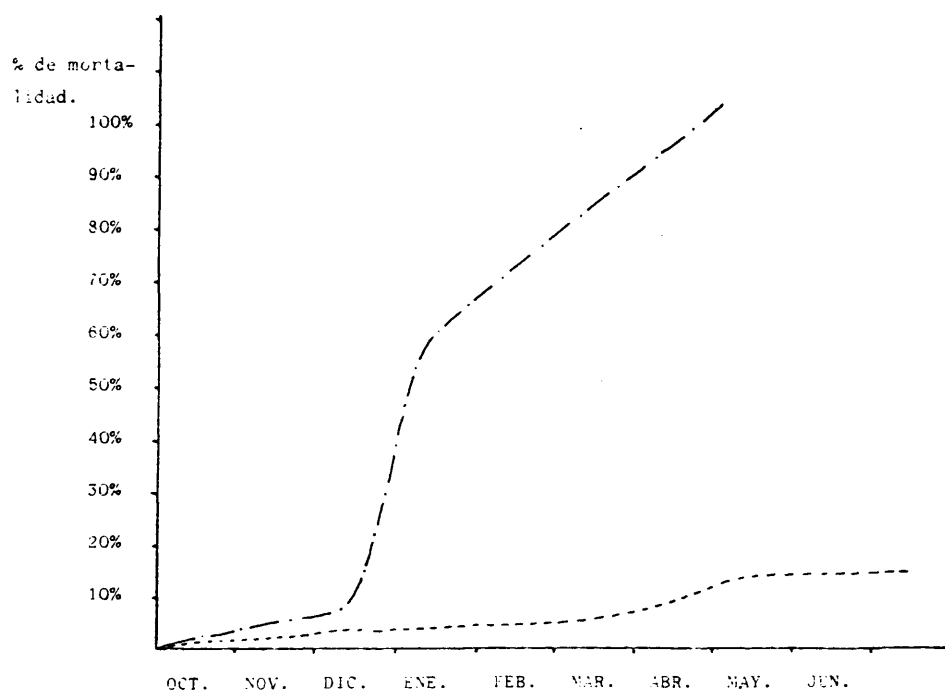
PESO ACUMULATIVO DE LAS PUESTAS POR MESES EN
CARACOL SANOS Y PARASITADOS

MESES	SANOS	PARASITADOS
OCTUBRE	--	20,2
NOVIEMBRE	363,7	180,3
DICIEMBRE	134,4	54,4
ENERO	153,3	3,8
FEBRERO	512,1	---
MARZO	155,3	8,6
ABRIL	65,6	3,3
MAYO	5,3	---

TABLA 4-5

PESO ACUMULATIVO DE LAS PUESTAS EN EL TOTAL DE LA
EXPERIENCIA EN CARACOL SANOS Y PARASITADOS

MESES	SANOS	PARASITADOS
OCTUBRE	--	20,2
NOVIEMBRE	363,7	200,5
DICIEMBRE	548,1	254,9
ENERO	701,4	258,7
FEBRERO	1213,5	258,7
MARZO	1368,8	267,3
ABRIL	1434,4	270,6
MAYO	1439,7	270,6



GRÁFICA 4-6 CURVA DE MORTALIDAD

Caracoles sanos
 Caracoles parasitados

TABLA 4-7

VALORES PROMEDIADOS POR MESES EN CARACOLES PARASITADOS

MESES	Peso puestas/ individuo	Número de puestas/ individuo
OCTUBRE	0,21 g.	0,06
NOVIEMBRE	1,87 g.	0,45
DICIEMBRE	0,63 g.	0,10
ENERO	0,08 g.	0,04
FEBRERO	0,00 g.	0,00
MARZO	0,55 g.	0,12
ABRIL	0,24 g.	0,15
MAYO	0,00 g.	0,00
JUNIO	0,00 g.	0,00
Total	3,57 g.	0,92

102

TABLA 4-8

CUADRO TOTAL DE LOS PARAMETROS REPRODUCTIVOS

Parámetros reproductivos	Caracoles sanos	Car. parasit.	
		reales	proced.
Número total de individuos	100	100	---
Número total de puestas	291	50	---
Nº total de puestas dobles	38	5	---
Peso total de las puestas	1.439,7g.	270,6g.	---
Nº medio de puesta/individ.	2,91	0,6	0,92
Peso medio de las puestas	4,9g.	4,5g.	---
Porcentaje de puestas dobles	7,6	8,3	---
Tiempo medio entre cópula y puesta	14 día	15 días	---
Tiempo medio de incubación	9 día	9 días	---
Peso medio de las puestas/individ.	14,21g	2,7g.	3,5g
Animales vivos final experiencia	82	0	---

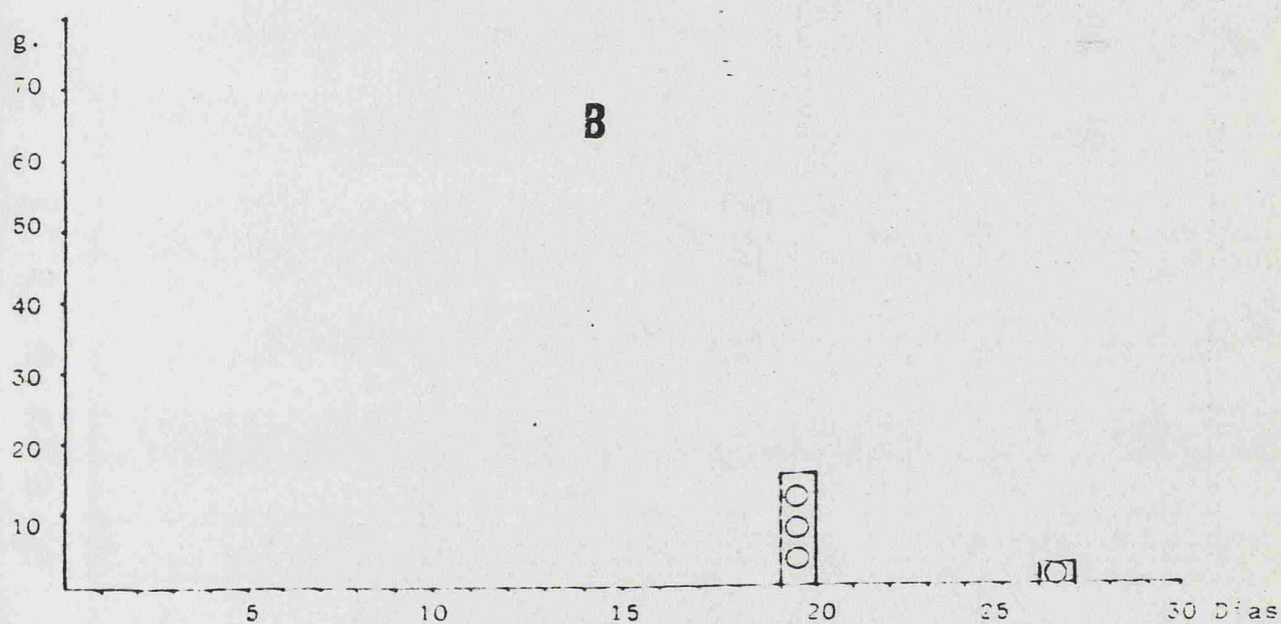
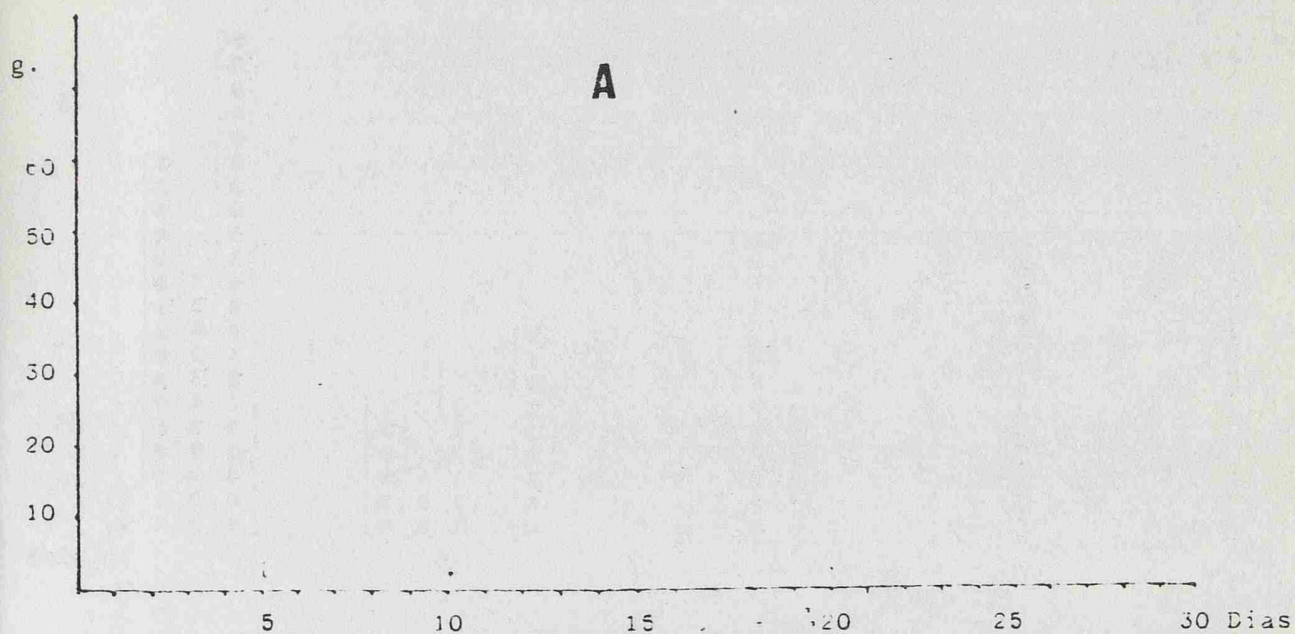


FIG. (4-9) HISTOGRAMAS CORRESPONDIENTES A LOS PESOS DE LAS PUESTAS
 EN EL MES DE OCTUBRE
 A) CARACOLLES SANOS
 B) CARACOLLES PARASITADOS

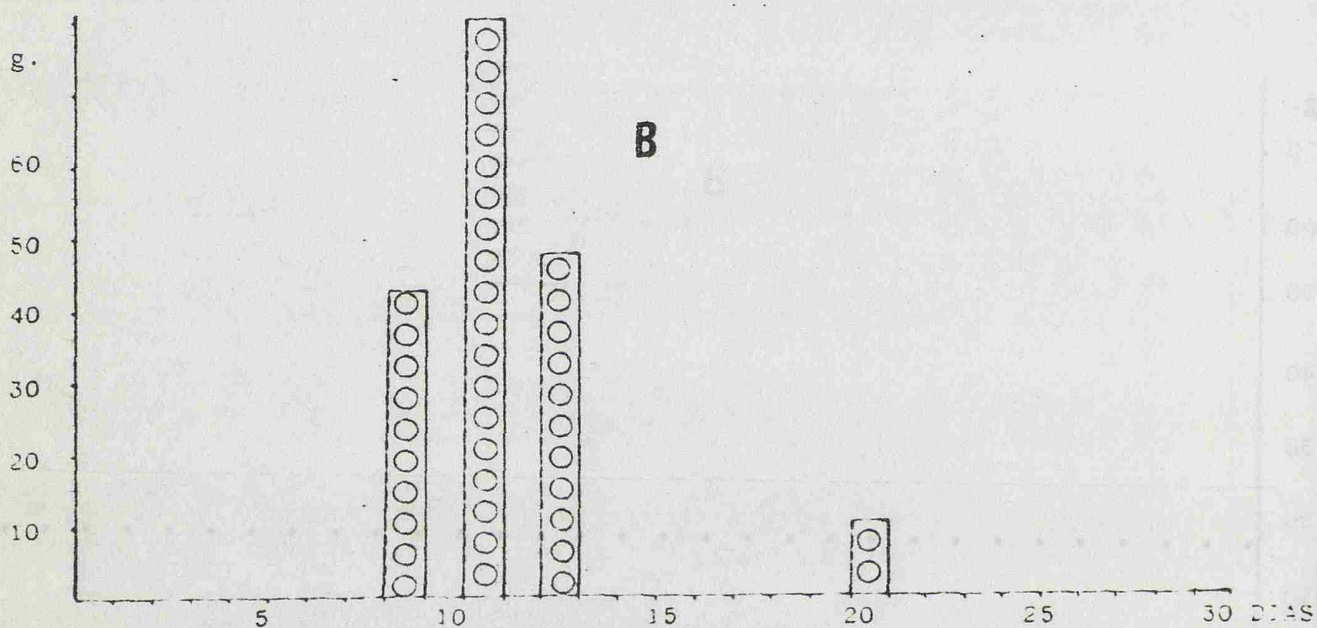
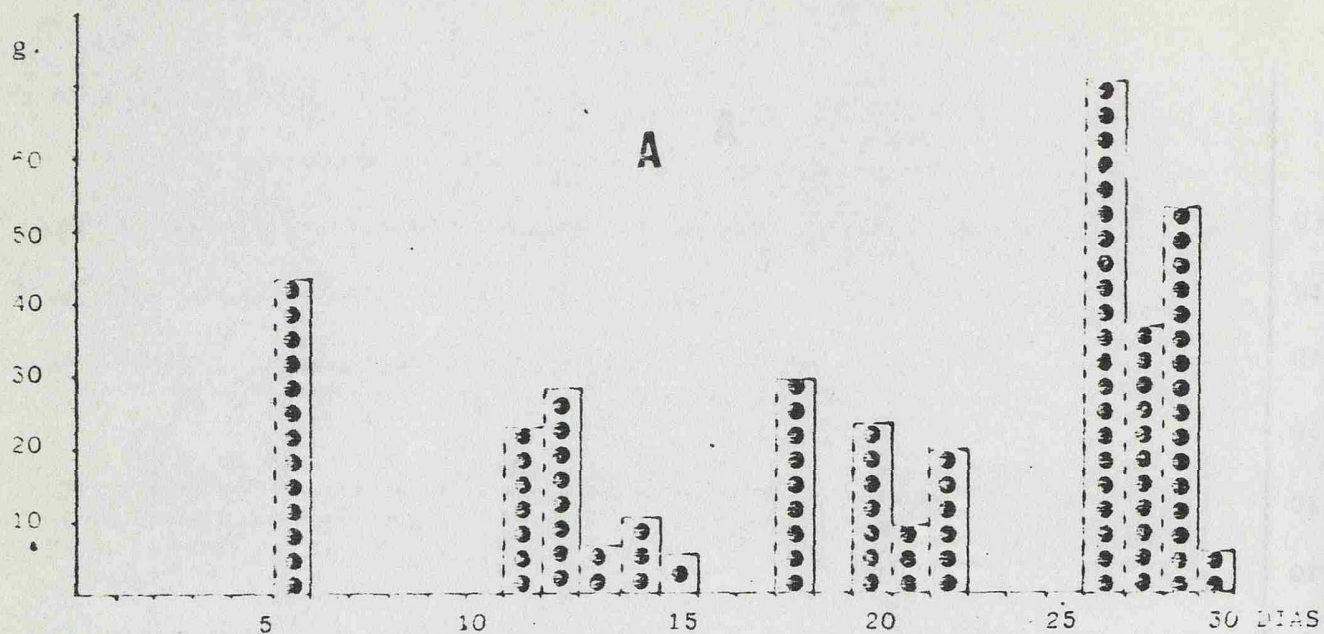


FIG. 4-10 HISTOGRAMAS CORRESPONDIENTES A LOS PESOS DE LAS PUESTAS EN
EL MES DE NOVIEMBRE
A) CAPACULES SANOS
B) CAPACULES PARASITADOS

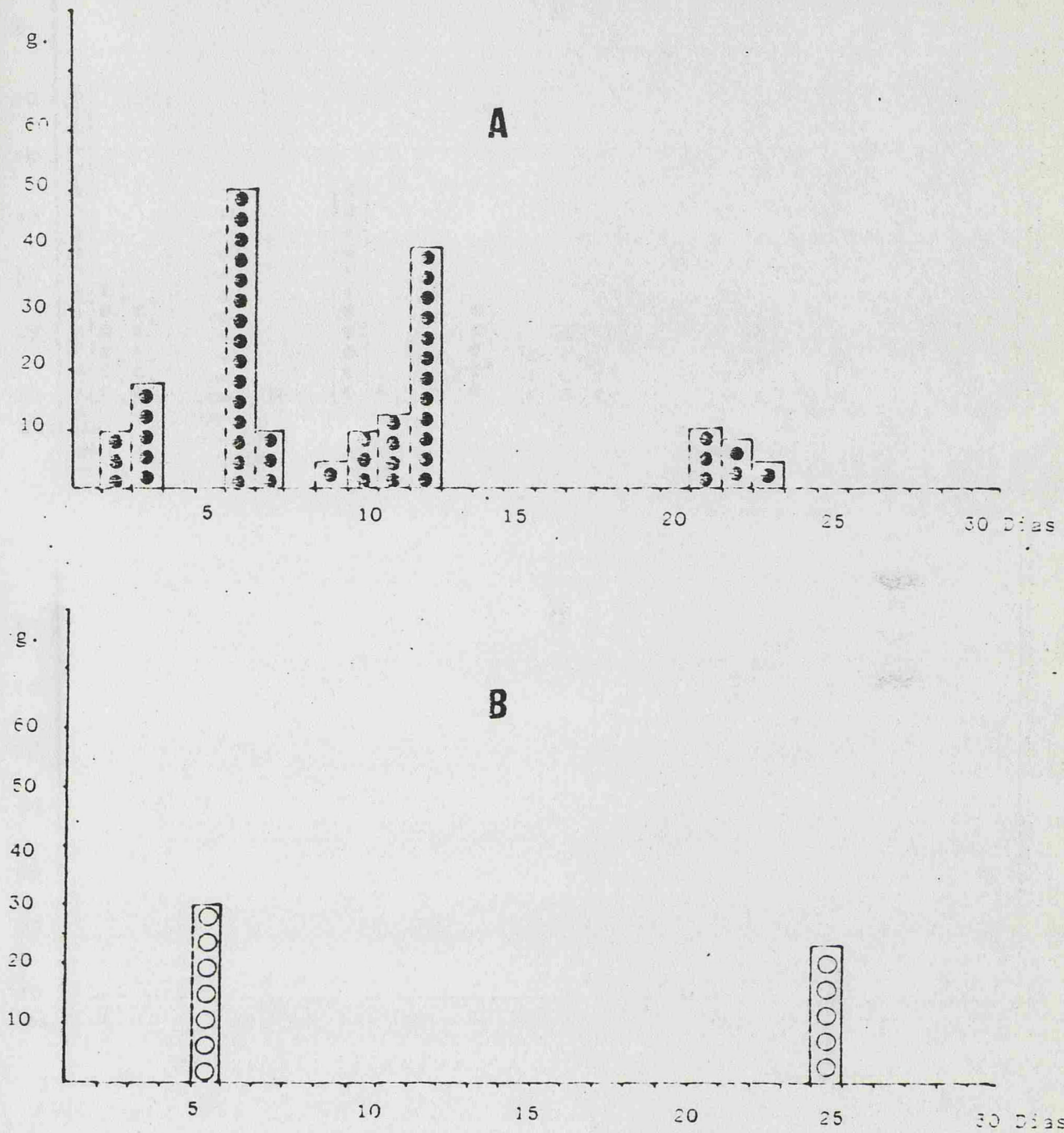


FIG. 4-11 HISTOGRAMAS CORRESPONDIENTES A LOS PESOS DE LAS PUESTAS
EN EL MES DE DICIEMBRE
A) CARACOL SANOS
B) CARACOL PARASITADOS

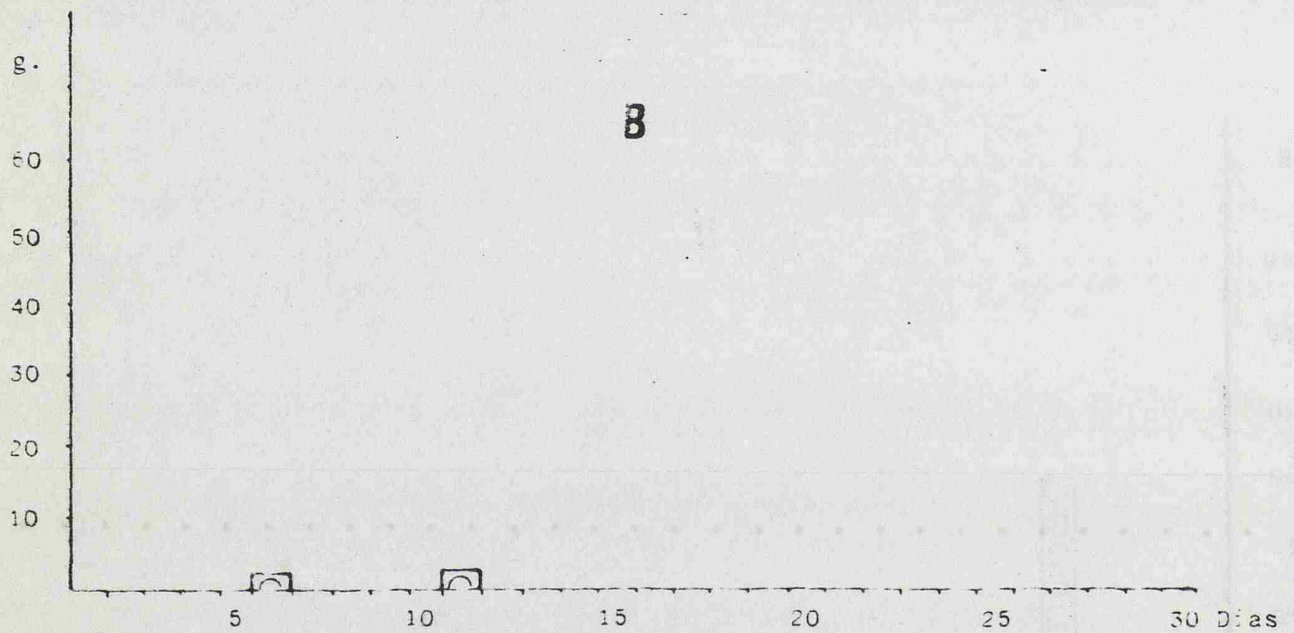
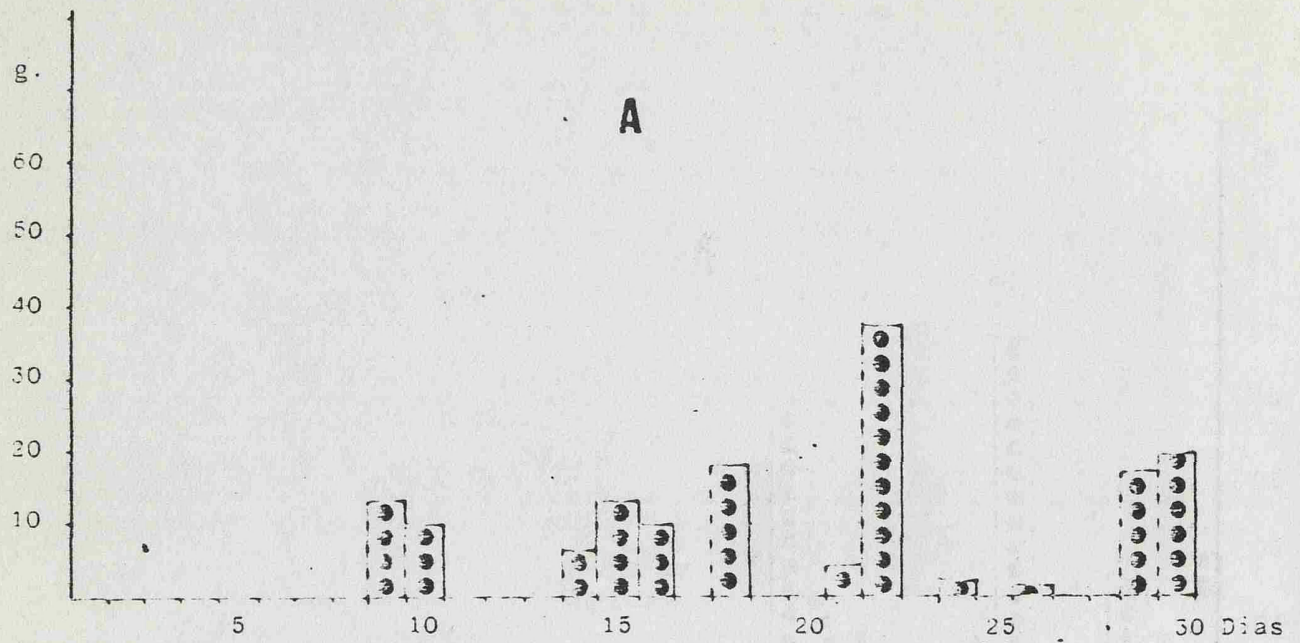


FIG. 4-12 HISTOGRAMAS CORRESPONDIENTES A LOS PESOS DE LAS PUESTAS
EN EL MES DE ENERO
A) CARACOLIOS SANOS
B) CARACOLIOS PARASITADOS

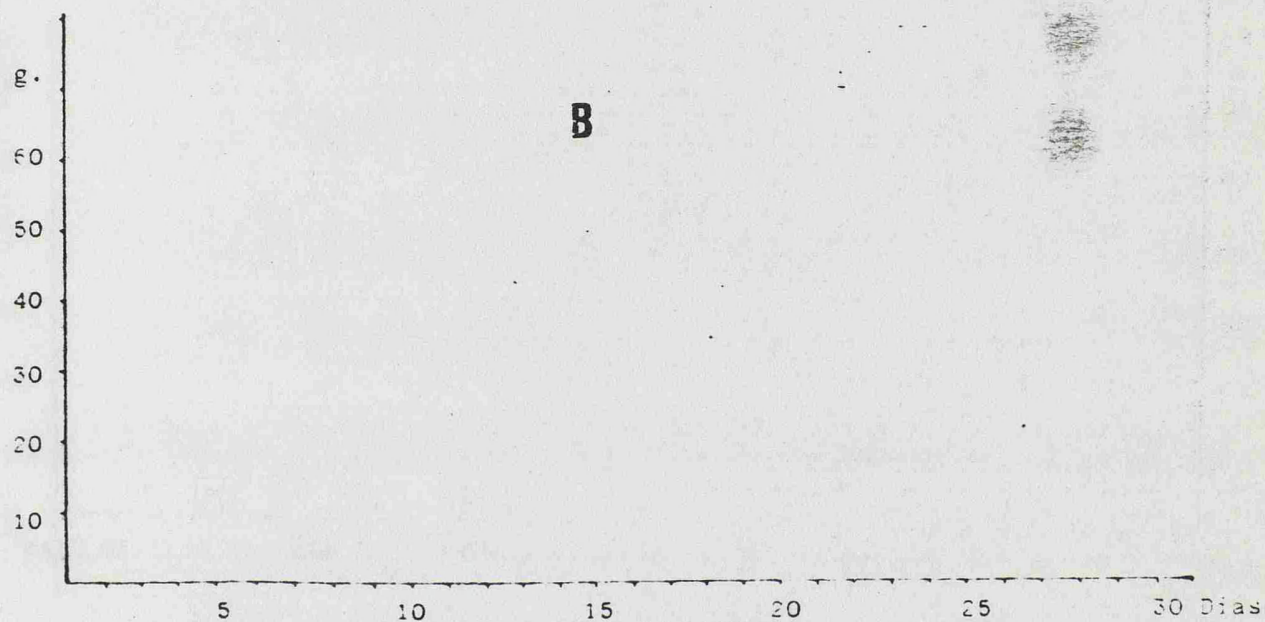
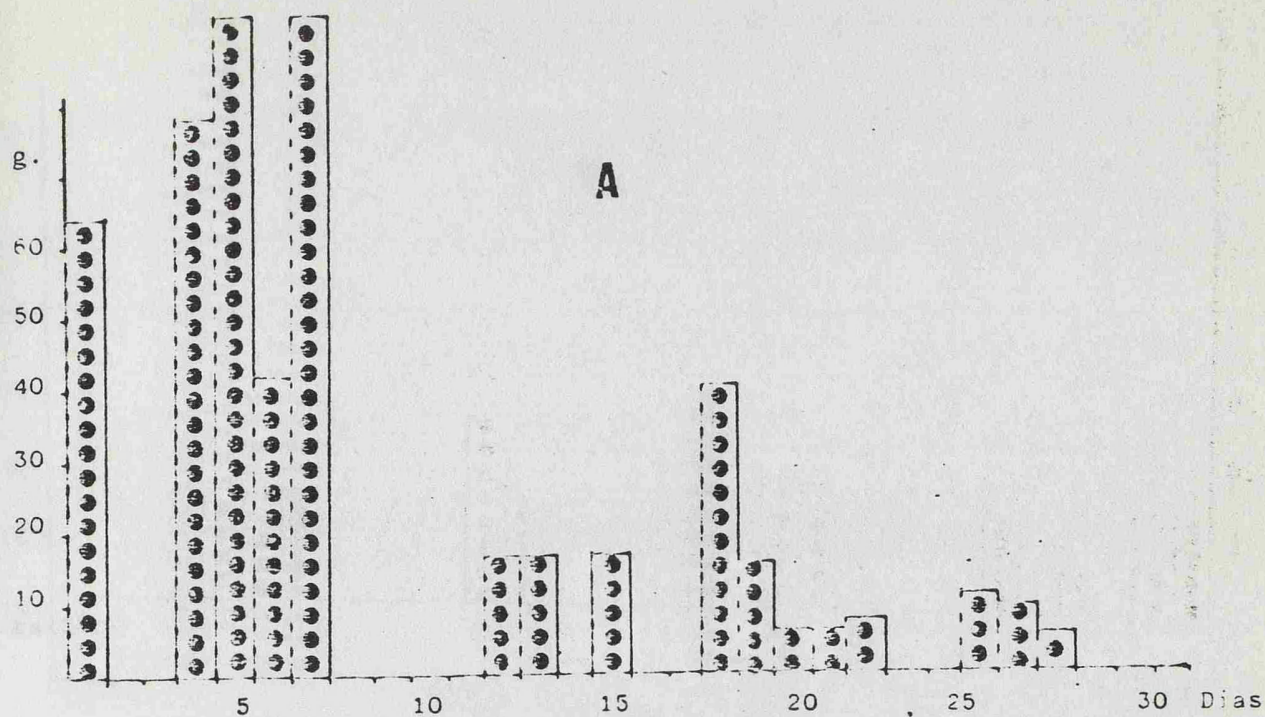


FIG. 4-15 HISTOGRAMAS CORRESPONDIENTES A LOS PESOS DE LAS PUESTAS
EN EL MES DE FEBRERO
A) CARACOLLES SANOS
B) CARACOLLES PARASITADOS

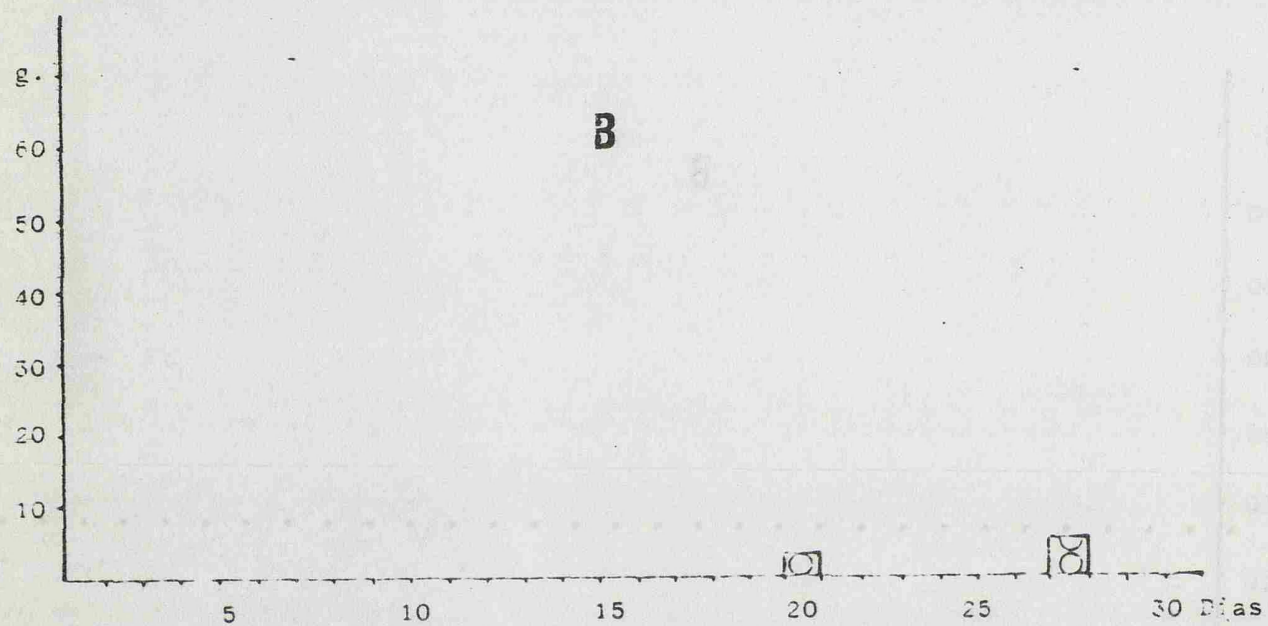
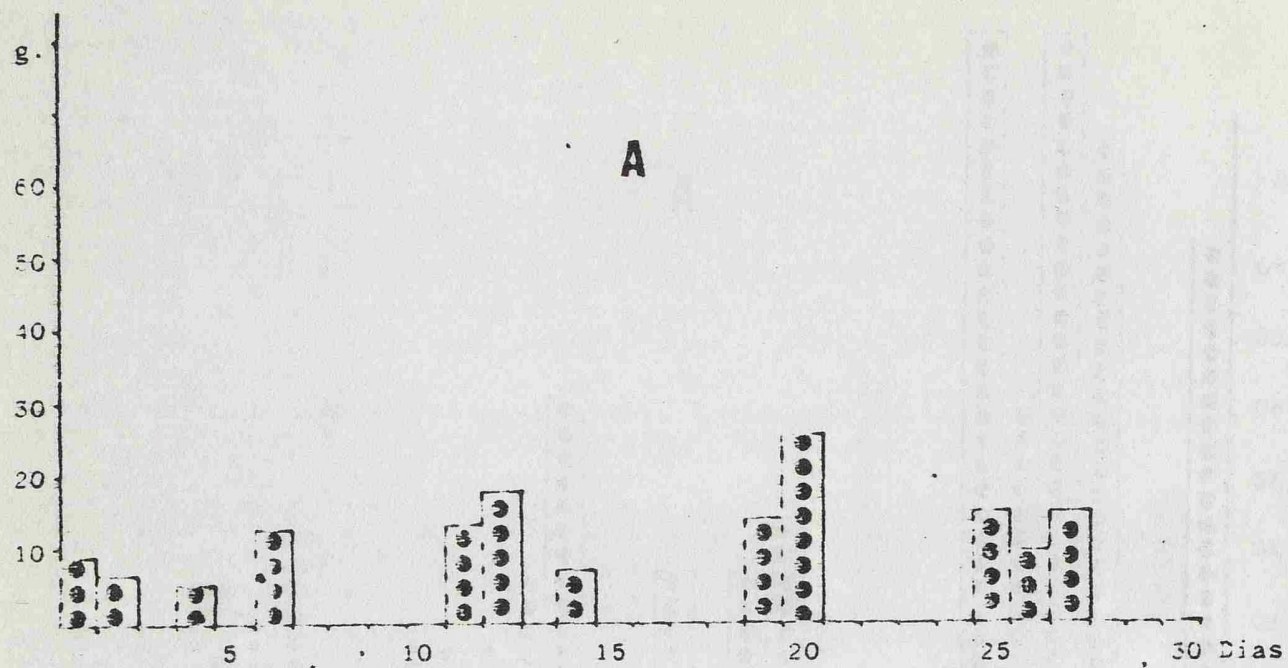


FIG. 4-14 HISTOGRAMAS CORRESPONDIENTES A LOS PESOS DE LAS PUESTAS
 EN EL MES DE MARZO
 A) CARACOLLES SANOS
 B) CARACOLLES PARASITADOS

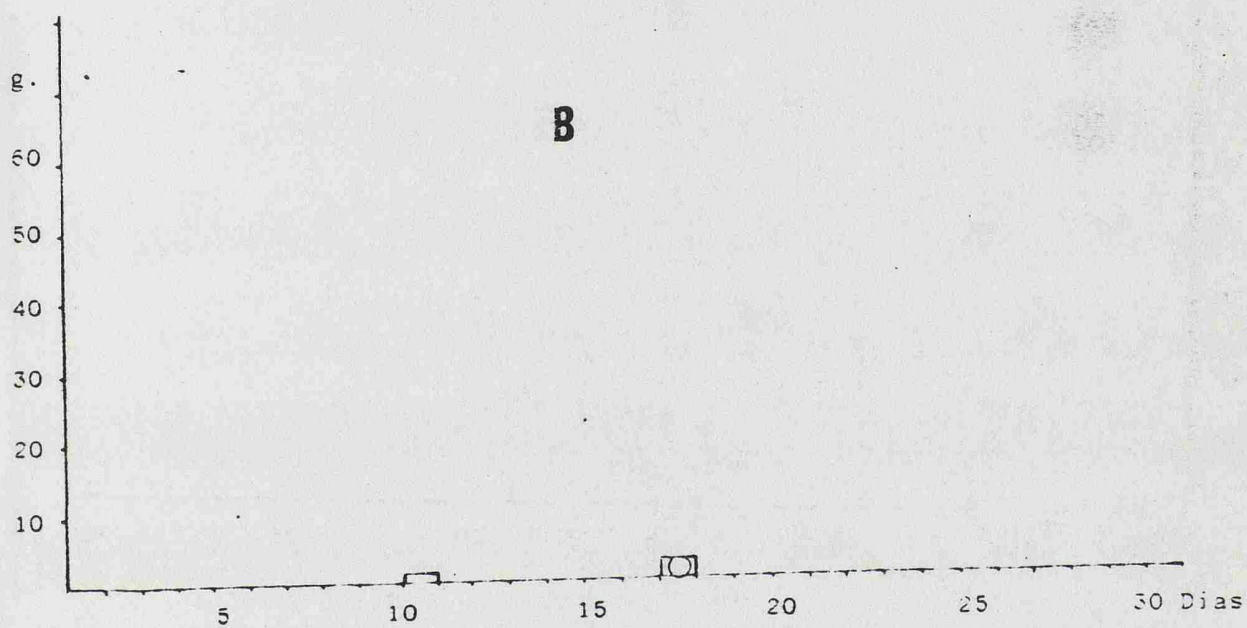
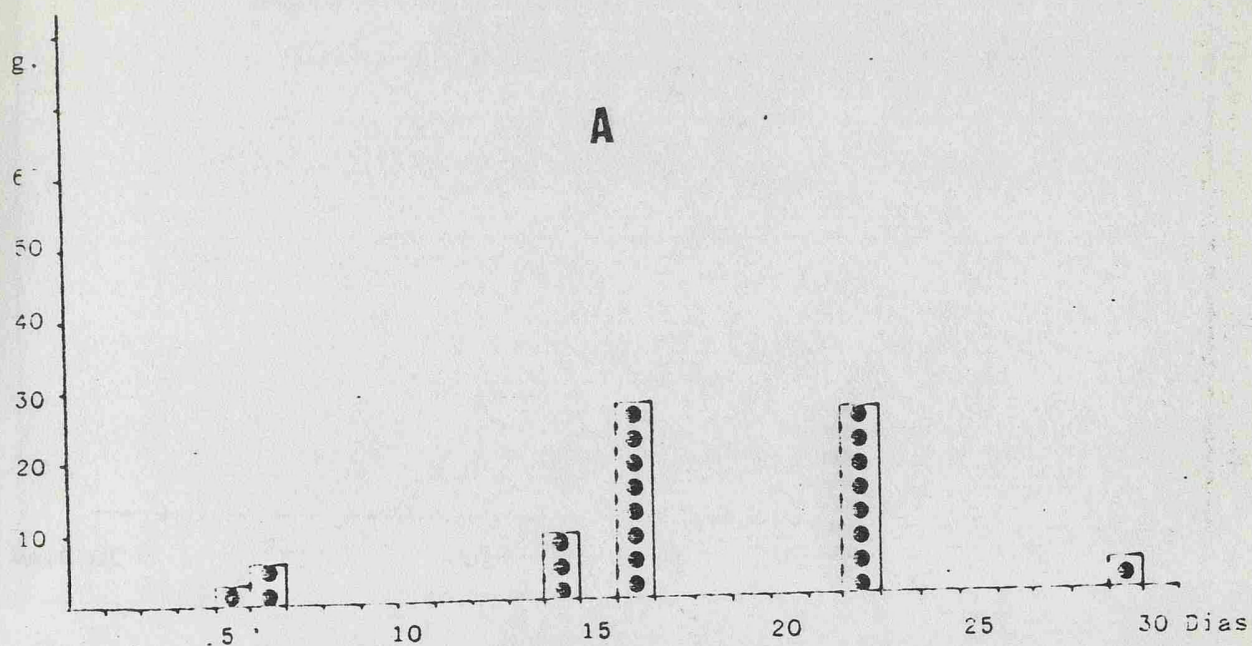


FIG. 4-15 HISTOGRAMAS CORRESPONDIENTES A LOS PESOS DE LAS PUESTAS

EN EL MES DE ABRIL

A: CARACOL SANOS

B: CARACOL PARASITADOS

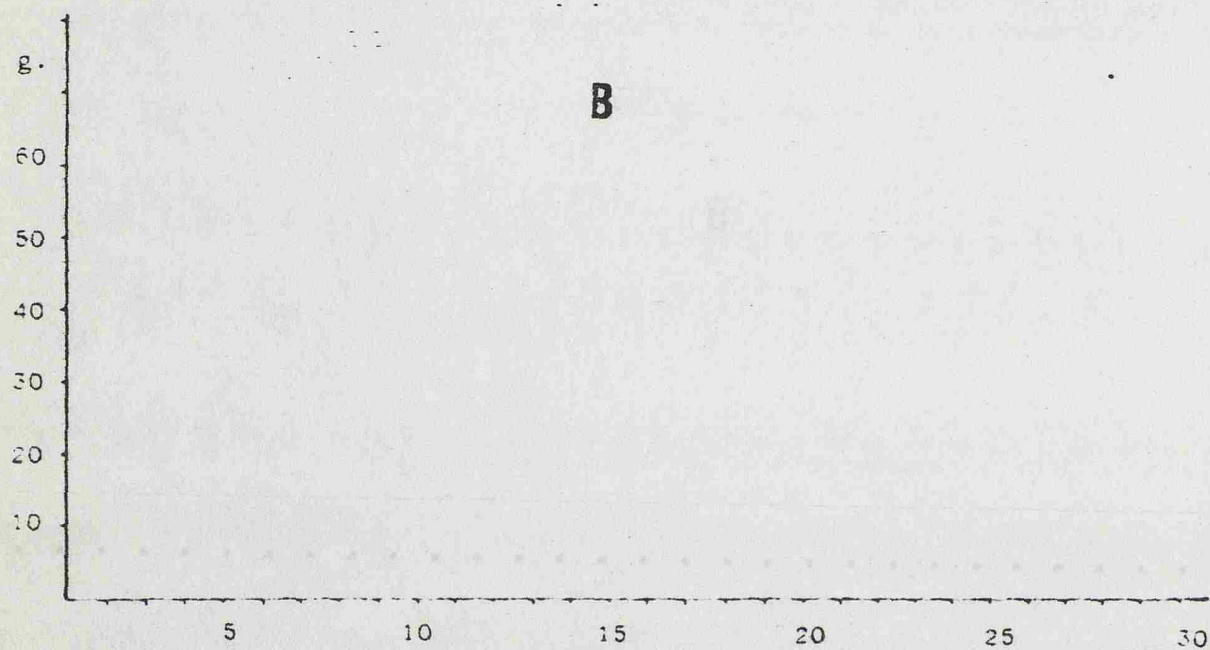
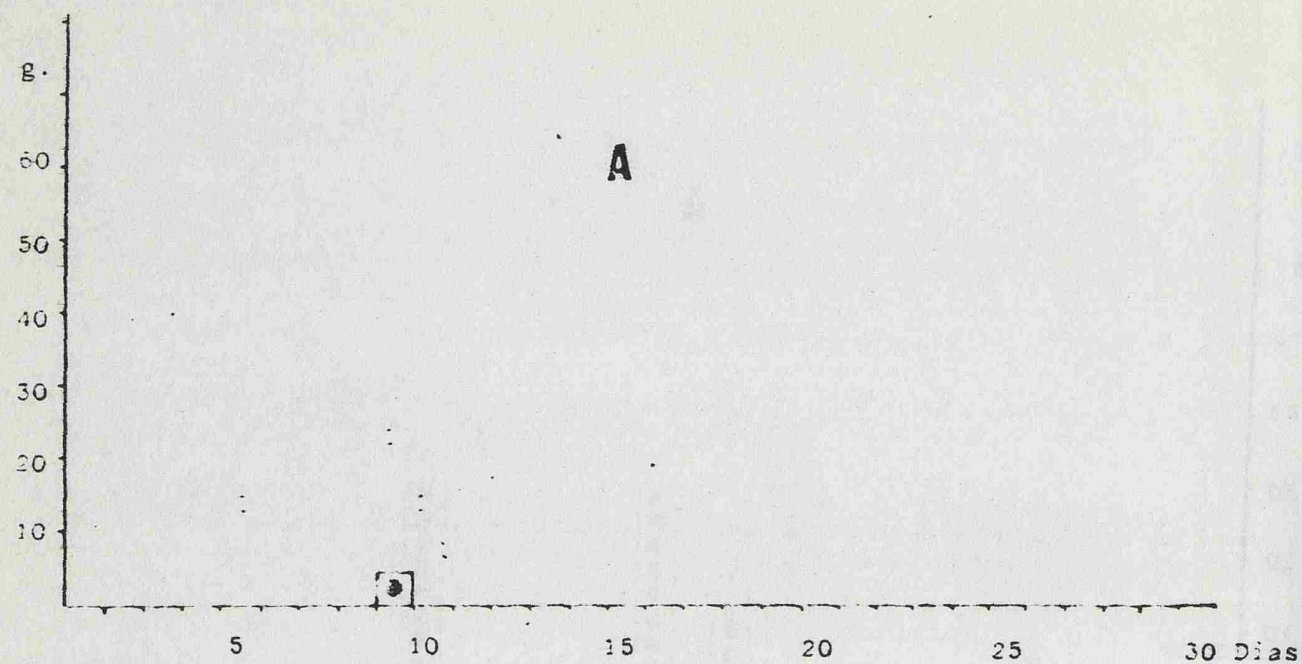
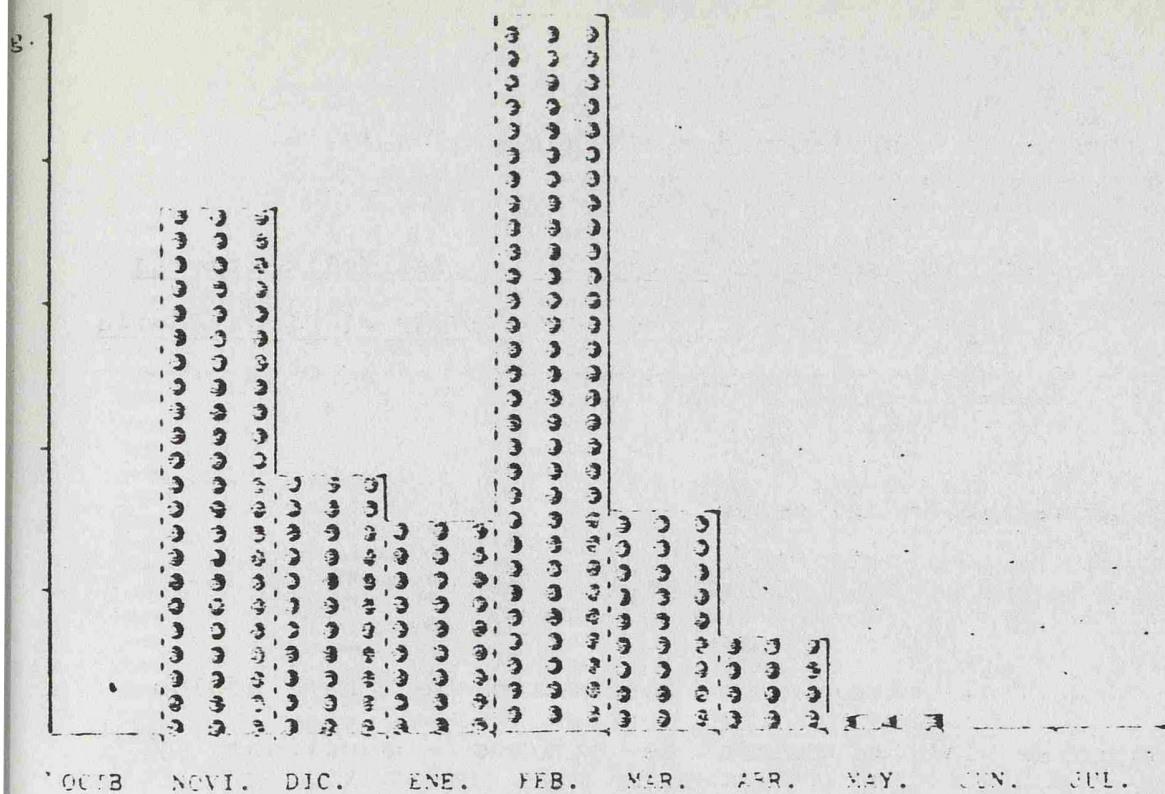


FIG. 4-16 HISTOGRAMAS CORRESPONDIENTES A LOS PESOS DE LAS FUESTAS
EN EL MES DE MAYO
A) CARACOLAS SANOS
B) CARACOLAS PARASITADOS



3

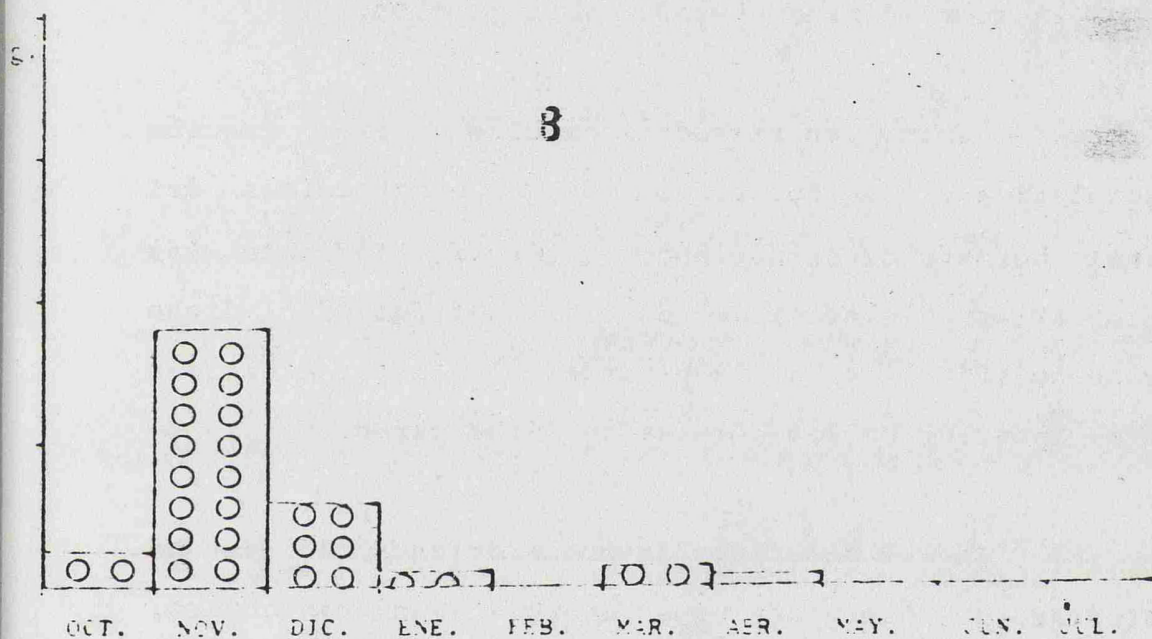


FIG. 4-17 HISTOGRAMAS GLOBALES CORRESPONDIENTES A LOS PESOS DE LAS
PUESTAS EN EL TOTAL DE LA EXPERIENCIA

- A) CARACOLLES SANOS
- B) CARACOLLES PARASITADOS



BIBLIOTECA

discusión de los resultados, (TABLA 4-8, 4-17)

4.2.2. Estudio espermático comparativo del Helix aspersa
en caracoles sanos y parasitados por el Riccardoella
limacum

A) Localización del semen

Al observar el ovotestis, se ha podido comprobar la existencia de gametos masculinos y femeninos en el mismo, comprobando la doble función de este órgano como productor de ambos gametos.

Hemos constatado también, la función acumulativa o de reservorio de espermatozoides del canal hermafrodita pudiendo observar, mediante las fotografías electrónicas de las paredes de dicho conducto (FIGURA 4-1), la presencia de espermatozoides en el interior de las células de dicha pared.

En los dos tipos de preparaciones que se ha estudiado se observaron espermatozoides en gran número, siendo las concentraciones de esperma en el canal hermafrodita muy superiores a las existentes en el

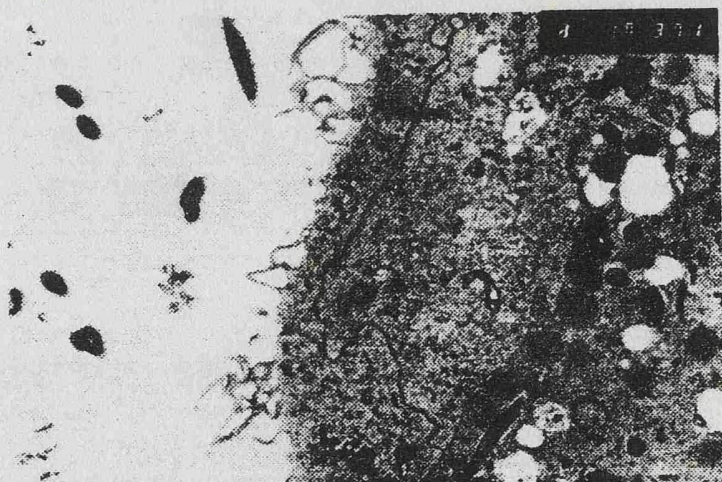


FIG. 4-1 MICROFOTOGRAFIAS ELECTRONICAS DE LA PARED DEL
CANAL HERMAFRODITA DEL *HELIX ASPERSA*

resto del aparato genital, por lo que se eligió esta parte del mismo para la obtención de semen, no sólo por su elevada concentración sino también por su facilidad de acceso.

B) Características espermáticas y ultraestructurales

De las observaciones de la motilidad, tanto en masa como individual, se llegó a la conclusión que el esperma de *H. aspersa* recogido de su canal hermafrodita carece totalmente de motilidad en masa dada la alta viscosidad que presenta. La motilidad individual es muy escasa, limitándose a movimientos espasmódicos ondulantes de sus largísimos flagelos sin llegar prácticamente a desplazarse por el campo del microscopio. (FIGURAS 4-2 y 4-3)

De estas observaciones se puede deducir, que los espermatozoides del *H. aspersa* están morfológicamente constituidos por una cabeza muy alargada, semejante a la de los espermatozoides de ave, seguida de un largo flagelo indiferenciado de aproximadamente 1,5 mm. de longitud no pudiendo distinguirse en este a microscopio óptico, el tracto intermedio y la cola. (FIGURA 4-4)

115

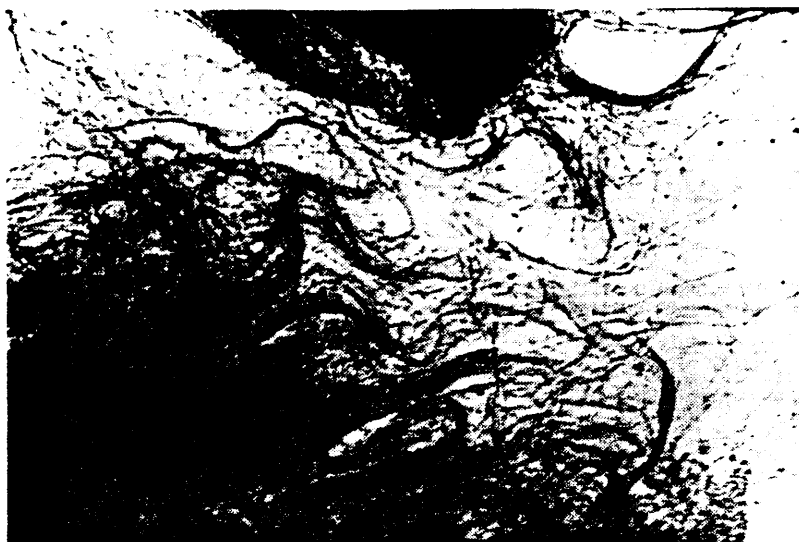


FIG. 4-2 SEMEN RECIENTE RECOGIDO

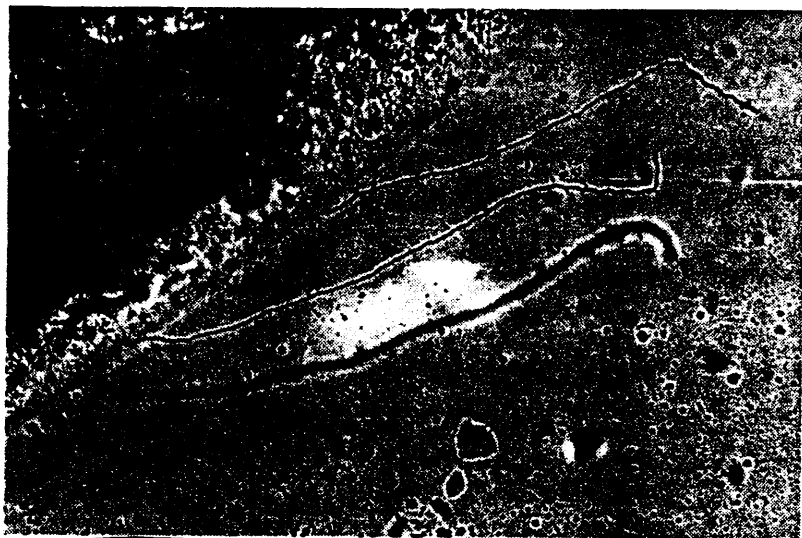
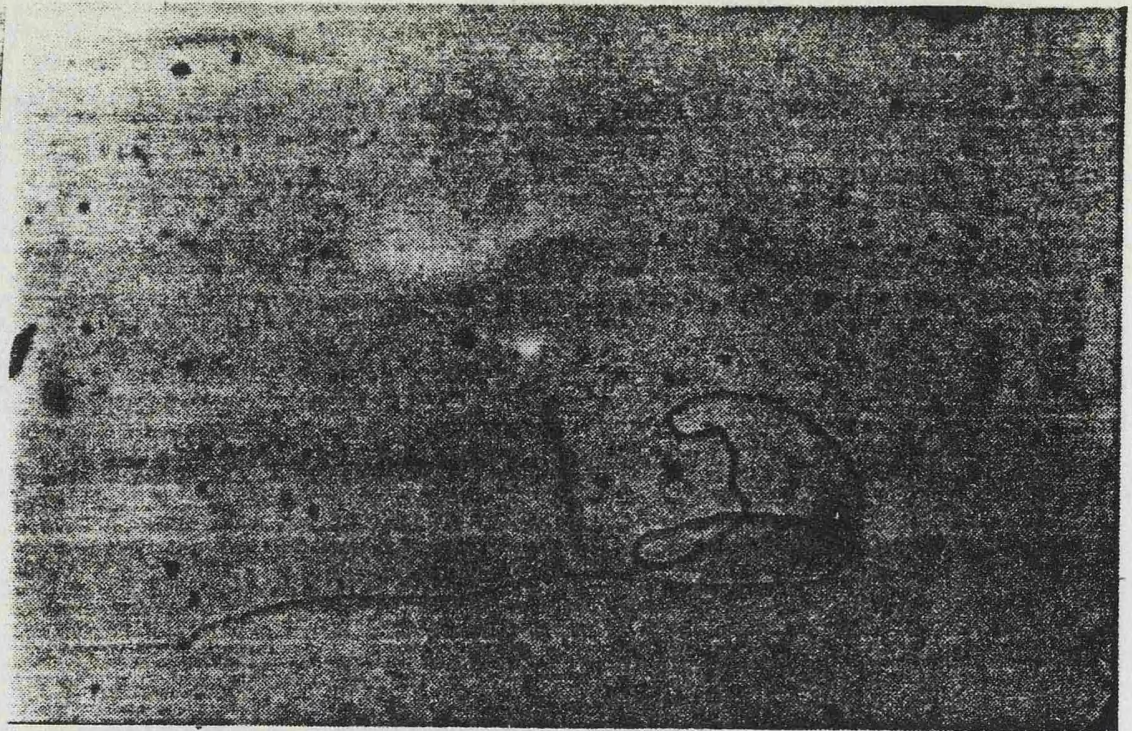
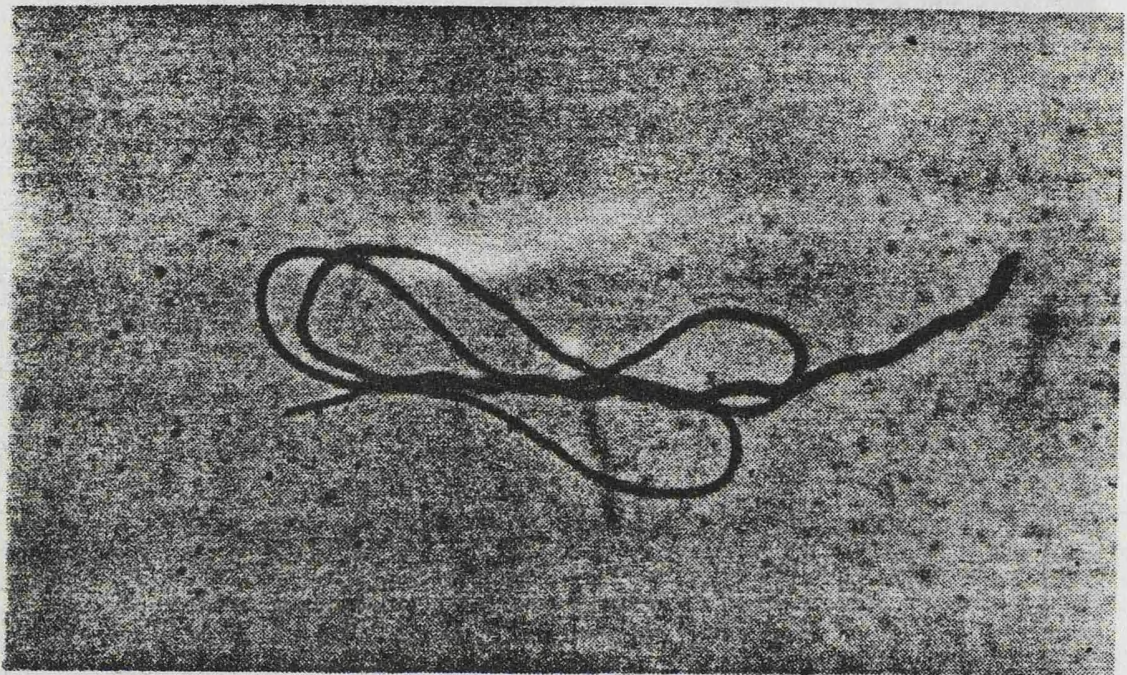


FIG. 4-3 SEMEN DILUIDO A 1:2,000



A



B

FIG. 4-4 FORMAS ANDRIALES DE ESPERMATOZOIDES DE HELIX ASPERSA

A) MACROCEFAZA

B) OVILLO

Tras observar las fotografías electrónicas de cortes sagitales y transversales de los espermatozoides de *Helix aspersa*, procedimos al estudio del mismo. Para mejor comprensión de los resultados podemos considerar al espermatozoide dividido en:

- a) Cabeza
- b) Cuello
- c) Tracto intermedio
- d) Cola

La cabeza presenta forma alargada, y se caracteriza por tener las siguientes estructuras: Un núcleo, un complejo acrosómico y una membrana celular.

El núcleo presenta igualmente forma alargada y está protegido por una doble envoltura nuclear.

En la base, el núcleo presenta una profunda concavidad bordeada por el acrosoma, que recibe la superficie de implantación del flagelo "foseta de implantación" o "placa basal". La localización de la placa basal hace que tanto el centriolo proximal como el distal se encuentren protegidos por el acrosoma.

El complejo acrosómico tiene forma de capuchón que recubre totalmente el núcleo y ambos centriolos. El acrosoma está protegido por una membrana celular adyacente.

Finalmente, existe una membrana celular que no es exclusivamente apical, sino que delimita la célula en toda su superficie.

El cuello del espermatozoide posee un conjunto de estructuras muy complejas, situadas entre la placa basal del núcleo y la parte anterior de la pieza intermedia que se articula con aquella.

En el espermatozoide de *H. aspersa* el cuello está como ya hemos indicado protegido por el acrosoma.

El tracto intermedio está formado por un conjunto de estructuras concéntricas comprendiendo un filamento axial, una corona de fibras y una vaina mitocondrial circunfleja en el seno de un pequeño tubo citoplasmático.

El filamento axial tiene su origen en el centriolo distal y se prolonga hasta el final de la

cola del espermatozoide. Esta constituido por un haz de fibras longitudinales, con la típica estructura flagelar.

La corona de fibras externas, en número de nueve, se dispone concéntricamente al filamento axial. Presenta una forma característica individualmente que varia en función de la distancia a la cabeza.

Todos los filamentos mencionados aparecen rectilíneos a lo largo del tracto intermedio y posteriormente de la cola. (FIGURAS 4-5 a la 4-7)

La vaina mitocondrial rodea externamente a la corona de fibras, y presenta una disposición peculiar. Se puede observar perfectamente en su matriz un gran acúmulo de glucógeno, y una doble corona de citocromos dispuesta en forma de ocho, de tal manera que en el interior de una de las coronas se encuentra el glucógeno y en la otra el filamento axial y las fibras externas. En el seno de esta última corona de citocromos se observa un acúmulo de ácido tricarboxílico cíclico en forma de herradura que puede ser única, doble e incluso triple como se aprecia en la FIGURA 4-7.





FIG. 4-5 CORTE LONGITUDINAL DE UN ESPERMATOZOIDE DE
MELIX ASPERSA (30.000 X)

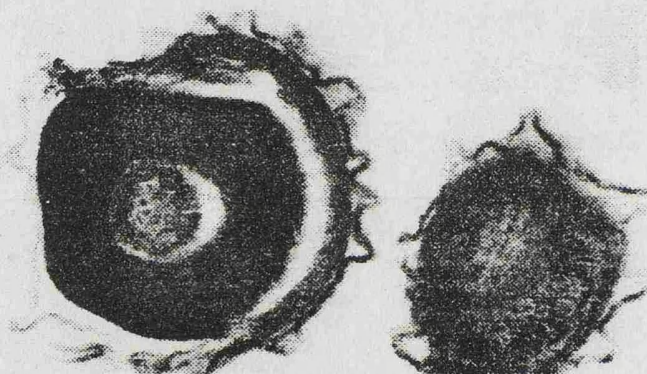


FIG. 4-6 CORTE TRANSVERSAL DE ESPERMATOZOIDES DE MELIX
ASPERSA (100.000 X)

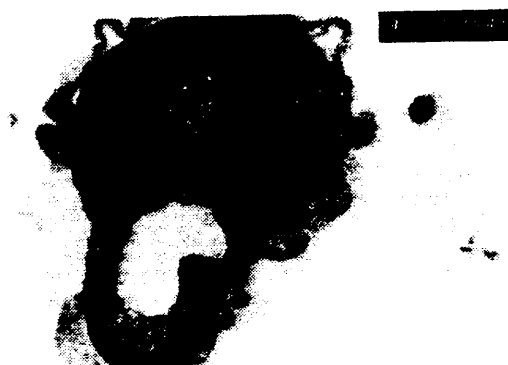
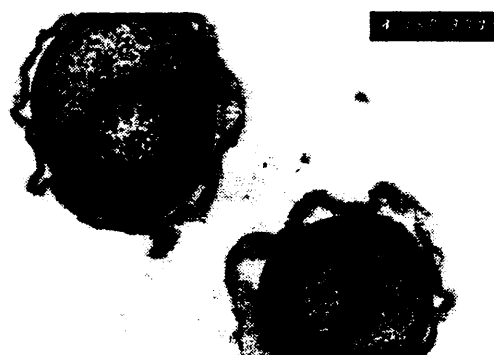


FIG. 4-7 CORTE TRANSVERSAL DEL TRACTO INTERMEDIO DEL
 ESPERMATOZOIDE DE *HELI*X *ASPERSA*.
 A) Ac tricarbexílico cíclico
 C) Citocromos
 G) Glucógeno



La cola la constituye el flagelo que asegura la motilidad del espermatozoide. Presenta una estructura semejante a la descrita en el tracto intermedio, y del cual es una continuación con la excepción de la ausencia de la vaina mitocondrial, pero poseyendo en su lugar una vaina fibrosa de naturaleza proteíca.

Recuento de epermatozoides

Sobre los datos obtenidos de los recuentos efectuados en los dos grupos de caracoles, sanos y parasitados, se realizó el estudio estadístico correspondiente que se indica en las TABLAS 4-18 y 4-19

TABLA 4-18

DATOS ESTADISTICOS EN CARACOLES SANOS

DATOS	100
MEDIA ESP/mm.....	1.457.840
DESVIACION TIPICA	± 232.830
ERROR DES. TIPICA	32.920
VARIANZA	5.421.320
MEDIANA	1.480.000
LIMITE MAXIMO	1.900.000
LIMITE MINIMO	860.000
EXTENSION	1.040.000

TABLA 3-19

DATOS ESTADISTICOS EN CARACOLES PARASITADOS

Estadística	Parasitación	
	entre 25 y 50 ácaros	entre 50 y 100 ácaros
DATOS	100	100
MEDIA ESP/mm.....	1.105.29	530.800
DESVIACION TIPICA..	+218.790	+199.580
ERROR DES. TIPICA..	30.940	28.510
VARIANZA	4.786.940	3.983.600
MEDIANA	1.150.000	530.000
LIMITE MAXIMO	1.560.000	950.000
LIMITE MINIMO	630.000	200.000
EXTENSION	930.000	750.000

Con estos datos se procedió a efectuar la Prueba de Student, comprobando entre si las medias de las tres experiencias indicadas. (TABLA 4-20)

TABLA 4-20

PRUEBA DE STUDENT

Comparación entre caracoles sanos y parasitados con una
concentración de ácaros entre 25 y 50

$P < 0,005$

Comparación entre caracoles sanos y parasitados con una
concentración de ácaros entre 50 y 100

$P < 0,001$

Comparación entre caracoles parasitados con una
concentración de ácaros de 25-50 y 50-100

$P < 0,005$

5. DISCUSSION

5. DISCUSION

Hábitat y comportamiento del *Riccardoella limacum* en relación con el *Helix aspersa*

Las localizaciones del ácaro dentro de la cavidad paleal, son lógicas ya que la cara parietal de dicha cavidad posee una gran ramificación de capilares sanguíneos, prácticamente superficiales y además el hábitat de cualquier individuo guarda siempre estrecha relación con su sistema de alimentación.

La situación de los estadios larvarios en muda y de los huevos es obviamente también lógica, ya que al no poseer sistemas o formaciones de anclaje, las propias fibras musculares son las que sujetan el ácaro.

Estudio comparativo de los parámetros reproductivos del *Helix aspersa* en caracoles sanos y parasitados por el *Riccardoella limacum*.

De la simple observación de las tablas referidas a la puesta (TABLAS 4-2 a la 4-5) se deduce

que la aparición de las mismas en todos los lotes de caracoles sanos siguió un ritmo uniforme y constante, no así en los parasitados, cuyo número de puestas queda reducido a un 20% considerando para los parasitados un valor de 100 caracoles a lo largo de toda la experiencia y a un 31% considerando el factor de mortalidad en el transcurrir de los meses. Así mismo se pudo comprobar que a medida que aumentaba el grado de infestación disminuía progresivamente el número de puestas.

En relación con las puestas dobles, considerando como tal las puestas correspondientes a cópulas en las que los dos congéneres de un mismo lote han actuado como macho y hembra simultáneamente no se ven afectadas por la parasitación siendo el valor aproximado en ambos casos de un 8 por ciento respecto al número total de puestas.

En el control efectuado sobre el tiempo entre cópula y aparición de la puesta se han obtenido valores similares en caracoles sanos como en caracoles altamente contaminados. Estos valores varían entre 14 y 15 días respectivamente, lo que nos indica que este proceso no se ve afectado por el *Riccardoella limacum*.

Aunque se sabe que el tiempo de incubación se ve afectado por parámetros ambientales, las variaciones en la duración de la incubación han sido por término medio de 9 días en ambos casos, oscilando entre valores extremos de 6 a 17 días. Estas oscilaciones se producen entre puestas distintas y nunca entre los huevos correspondientes a la misma puesta que eclosionan todos ellos con una diferencia máxima de 24 horas. Estas variaciones no han sido debidas a fenómenos de este tipo ya que las condiciones ambientales permanecieron constantes e iguales para todas las puestas a lo largo de todo el periodo que duró la experiencia.

Estos resultados referidos a la incubación son lógicos y coherentes con datos obtenidos en nuestras investigaciones anteriores (1984) en las que se constató que los huevos de estos moluscos no se ven afectados por los ácaros en estudio, por lo cual tampoco debía influir en su tiempo de eclosión.

La mortalidad producida por el incremento consecutivo del grado de parasitación ha sido un factor muy a tener en cuenta no sólo a la hora de obtención de valores referidos como hemos ya indicado, sino también, a la hora de enjuiciar los resultados, sobre todo los

relativos a los parámetros base de puestas y a todos aquellos señalados por individuo.

La mortalidad de los caracoles parasitados fue incrementándose en proporción altamente creciente hasta llegar a un valor del 100%. Si consideramos como referencia el valor del 12% obtenido para caracoles sanos, el grado de mortalidad en los parasitados fue 5,5 veces mayor, como se puede apreciar observando la gráfica comparativa de la TABLA 4-6.

Creemos conveniente apuntar al respecto, que las disminuciones en los parámetros relativos a las puestas son debidos no sólo a la propia etiología de la enfermedad sino también a la elevada tasa de mortalidad, factor este último que hemos tenido en cuenta en la obtención de los valores de estos parámetros pero como consecuencia final a ambas causas hemos de indicar que el *R. linacum* ya sea directa o indirectamente, afecta, sobremedida, a la reproducción del *H. aspersa* y produce una disminución de un 30% en la rentabilidad de una explotación helicícola.

Estudio espermático comparativo del *Helix aspersa* en caracoles sanos y parasitados por el *Riccardoella limacum*

A) Localización del semen

Para la explicación de la presencia de espermatozoides en el interior de las células de la pared del canal hermafrodita, no disponemos de observaciones suficientes para asegurar que estas células puedan tener una cierta capacidad espermatogénica, pero creemos que es digno de reseñar por lo que este hecho pueda aportar a las teorías descritas hasta ahora sobre la biología de la reproducción de estos moluscos. Consideramos del todo necesario la realización de un número mayor de preparaciones microscópicas, así como un completo estudio espermatogénico antes de hacer cualquier aseveración, pero queremos dejar constancia de nuestra experiencia y resultados, hasta su posible confirmación

B) Características espermáticas y ultraestructurales.

La disposición particular de las mitocondrias

espermáticas y el gran acúmulo de glucógeno en su interior, es necesario para el metabolismo propio de estas células sexuales ya que al carecer los caracoles de un órgano prostático como sucede en los mamíferos, requieren la presencia de sustancias energéticas en su interior, para mantener su actividad hasta el momento de la fecundación.

C) Recuento de espermatozoides.

Del estudio de las concentraciones espermáticas en el canal hermafrodita, tanto en caracoles sanos como parasitados, y de los resultados obtenidos, se comprueba la gran influencia del *R. limacum* sobre la función espermatogénica del ovotestis, llegando a anularla casi por completo cuando las concentraciones de ácaros en la cavidad paleal son superiores a cien individuos.

La comparación de las medias espermáticas obtenidas en los tres casos mediante la prueba de Student, demuestra que estas diferencias son significativas, por lo que podemos asegurar que la disminución de las concentraciones espermáticas, es directamente proporcional al aumento del grado de parasitación.

6. CONCLUSIONES

6.-CONCLUSIONES

1.- El grado de parasitación por el *Riccardcella limacum* (Schrank) en el *Helix aspersa* (L.) es ampliamente mayor en las explotaciones controladas que en las naturales en estado libre.

2.- El *R. limacum* en sus estadios larvarios, ninfales y adulto se encuentra fijado principalmente en la cara parietal de la cavidad paleal del *H. aspersa*. Los huevos se encuentran a su vez sujetos entre las fibras musculares de dicha cavidad.

3.- La tasa de mortalidad en caracoles parasitados por el *R. limacum* es veinte veces superior a la normal.

4.- El *R. limacum* produce una disminución en la rentabilidad reproductiva de una explotación de caracoles de aproximadamente un 80%

5.- El *R. limacum* produce una marcada disminución en las concentraciones de espermatozoides, siendo ésta directamente proporcional al grado de parasitación.

- 136 -

6.- Cuando las concentraciones de ácaros en la cavidad paleal del caracol son superiores a 100 individuos se paralizó la función espermatogénica del ovotestis.

7. RESUMEN

7. RESUMEN

Para establecer las características biológicas del *Riccardoella limacum* (Schrank), se ha realizado inicialmente un estudio bibliográfico exhaustivo sobre la familia Ereyenetidae, a la que pertenece este ácaro y muy preferentemente en relación con el citado parásito *R. limacum*.

Basándonos en todos los trabajos encontrados al respecto, y de modo especial en los de BAKER, cuyas investigaciones son las más recientes y están efectuadas con el ácaro en estudio, hemos establecido la morfología, anatomía interna y ciclo biológico del *Riccardoella limacum* y estudiado su comportamiento, soporte imprescindible de nuestras investigaciones posteriores.

Puesto que todos los estudios biológicos efectuados sobre el *R. limacum*, que hemos encontrado, han sido efectuados sobre babosas, considerando que las diferencias anatómicas entre éstas y los caracoles, favorecen el fenómeno de parasitación. en estos últimos

se ha llevado a cabo un estudio comparativo en caracoles sobre el hábitat y relación hospedador-parásito.

Por medio de un laborioso trabajo experimental se han efectuado recuentos de los ácaros tanto de la parte externa como interna del caracol. Para el recuento, localización y comportamiento de los ácaros dentro de la cavidad paleal del caracol se han realizado zootomías seriadas de éste con la aplicación de técnicas apropiadas de preparación de cortes histológicos y tinciones y se han efectuado subsiguientemente las correspondientes observaciones microscópicas, habiéndose obtenido interesantes resultados.

Con el fin de averiguar la influencia que ejerce el *R. limacum* en el poder reproductor del caracol, factor éste de suma importancia en la rentabilidad de la industria helicícola, se procedió a realizar el estudio de la influencia de la parasitación del caracol por este ácaro en su reproducción.

Para ello se realizó previamente el estudio bibliográfico del aparato reproductor del *H. aspersa*.

En este estudio bibliográfico se ha contemplado tanto la anatomía como la fisiología del aparato reproductor de este molusco, y también el fenómeno mismo de la reproducción. Posteriormente se ha efectuado un amplio trabajo experimental, llevando a cabo un estudio comparativo de los parámetros reproductores en caracoles sanos y parasitados por el *R. limacum*. Para ello se han realizado controles de los parámetros básicos (número de individuos, número total de puestas, número total de puestas dobles, peso total de las puestas, tiempo entre cópula y puesta y tiempo medio de incubación) y funcionales (número de puestas por individuo, peso medio de las puestas, peso total medio de puestas por individuo y porcentaje de puestas dobles), durante un periodo de nueve meses, en el vivario de la Cátedra de Biología de la Facultad de Veterinaria de Madrid.

De la intercomparación de los resultados de estos controles se ha llegado a interesantes conclusiones en relación con la rentabilidad de las explotaciones controladas de este helícido, llegando a determinar que el *R. limacum* puede hacer disminuir dicha rentabilidad hasta en un 20%.

Para lograr un mayor conocimiento de la influencia del *R. limacum* en la reproducción del caracol, se estudió mediante zootomías y preparaciones histológicas la presencia de semen en las diferentes partes del aparato reproductor, constatando la función acumulativa o de reservorio de espermatozoides del canal hermafrodita

A este mismo respecto, se ha continuado el trabajo determinando las características espermáticas y la ultraestructura de los espermatozoides de *H. aspersa* por medio de observaciones microscópicas de esperma obtenido del canal hermafrodita, y por medio de un estudio con microscopio electrónico de los espermatozoides existentes en el mismo canal y en el ovotestis.

A partir de estas observaciones se ha definido la morfología de los espermatozoides y distribución de sus componentes fundamentales.

Por último, a fin de establecer diferencias comparativas en cuanto a producción de espermatozoides, considerando a esta producción factor proporcional al poder reproductor, se ha hecho un recuento de éstos en

el semen de caracoles sanos y parasitados, haciendo el estudio estadístico de los resultados. De la consideración y estudio de dichos resultados se ha deducido que el *P. limacum* produce una marcada disminución en las concentraciones espermáticas, siendo ésta directamente proporcional al grado de parasitación.

SUMARY

Based on the published works found, we established the morphology and anatomical characteristics as well as the biological cycle of *Riccardoella limacum* and also studied its behaviour as a necessary tool for further studies.

Since all the studies we found of *R. limacum* had been carried out on shigs we take account the differences between those types of molluscae trying to find the relationship between acaruses an snails, counts of acaruses on external and internal parts of snails were made by means of zotomies and stainings of histological preparations. As the target of our work was to find the influence of acarus on snail reproductive performance, the adequate research was done.

Previously a bibliographical review on reproductive tract of *Helix aspersa* was done and a futher experimental work on reproduction parametra on healthy and infested snails was purposely carried out, during a nine months period.

Comparing the results of his controls we were able

to reach interesting conclusion about the economics of the industrial rearing of the helicidae. We have determined that *R. limacum* lower profitability by 80%.

In order to reach a full understanding of the influence of *R. limacum* on snails reproduction the presence of semen in the diferents parts of reproductive organ was studied by mean of zotomies and histological technics, verifying the accumulative and reservoir role function for spermatozoa of hermafrodite canal for spermatozoa.

With the same objective we research the spermatic characteristics and ultrastructure of the spermatozoa by means of microscopic works of the semen obtained from the hermafrodite canal and electronic microscope study on that canal and in ovotestis.

Based on these observations we ware able to ascertain the morphology of spermatozoa and the arrangement of its main structures.

Finally, after establishing the comparative differences of the spermatozoa production and taking into consideration this production factor in proportion to the reproductive power, we did a count of this in the semen of

- 145 -

healthy and infested snails, making a statistical study of the that results, and we have concluded that the *R. limacum* produces a marked decrease in the spermatic concentration, being directly proportional to the amount of infestation.

RESUME

A fin d'établir les caractéristiques biologiques du *Riccardoella limacum* (Schrank), nous avons effectué une étude bibliographique sur cet acare qui appartient à la famille Ereyenetidae.

D'après la littérature consultée au respect, et spécialement aux travaux de Baker, qui sont les plus récents réalisés sur cet acare nous avons établi les caractéristiques physiologiques et biologiques et ainsi que leur conduite en rapport au *Helix aspersa*.

De même que toutes les études biologiques trouvées sur le *R. limacum* ont été effectuées sur des limaces, et puisque les différences anatomiques entre ceux-ci et les escargots favorisent le phénomène de parasitisation de ces derniers, on a réalisé une étude expérimentale comparative sur la relation escargot-*R. limacum*.

Dans cette étude nous avons observé, la localisation des acares et leur numération tant dans la partie externe de l'escargot ainsi que la cavité

pulmonaire. Pour cela on a effectué des zotomies
sériées et préparations histologiques de l'escargot
avec l'application des techniques appropriées et des
observations microscopiques correspondantes, avec de
bons résultats.

A fin de connaître l'influence de la
parasitation de l'acare *R. limacum* sur la puissance
reproductrice de l'escargot on a fait l'étude de
l'influence de la parasitation de l'escargot par cet
acare dans sa reproduction.

On a réalisé également l'étude
bibliographique sur l'anatomie et la Physiologie de
l'appareil reproducteur de *Helix aspersa* ainsi sur son
activité reproductive.

D'après ces connaissances on a étudié
expérimentalement les paramètres reproducteurs en
escargots sains et parasités par le *R. limacum*. Pour
ceci on a effectué des contrôles: du nombre de membres,
du nombre total de pontes simples et doubles, du poids
total des pontes, du temps entre copules et ponte, du
temps moyen d'incubation etc., pendant une période de
neuf mois. Pour la comparaison des résultats des ces

contrôles on est arrivé à des intéressantes conclusions en relation avec la rentabilité des exploitations contrôlées de cet hélicide, en constatant que la parasitation par le *R. limacum* peut faire descendre la rentabilité jusqu'à 80%.

Pour arriver à une plus grande connaissance de l'influence du *R. limacum* en la reproduction de l'escargot on a étudié aussi au moyen des zotomies sériées et préparations histologiques l'existence de semence dans les différentes parties de l'appareil reproducteur de l'escargot en constatant la fonction accumulative ou de réservoir des spermatozoïdes du canal hermaphrodite.

On a déterminé de même les caractéristiques spermatiques du *H. aspersa* et l'ultrastructure de leurs spermatozoïdes à l'aide par études de microscopie électronique des spermatozoïdes existants dans ce canal et dans l'ovotestis.

Après ces observations on a défini la morphologie des spermatozoïdes du *H. aspersa* et la distribution de leurs composantes fondamentaux.

- 147 -

Finalment, en considérant la production des spermatozoides un facteur proportionnel à la puissance reproductive on a fait un recompte de ceux-ci dans la semence des escargots sains et parasités et ensuite l'étude estadistique des résultats.

A partir de ces résultats on est arrivé a la conclusion que le *R. limacum* produit une remarquable disminution des concentrations spermatiques, directement proportionel au degré de parasitation.

8. BIBLIOGRAFIA

- 1.- AGRICLIMA, 1983. Elevage d'escargots. Noisy le Grand.
- 2.- ANAYA, H. 1973. El caracol, maravilla de la naturaleza. Rev./Geograf. Univ. 11: 548-569.
- 3.- AUBERT, C. 1980. Les héliciculteurs de L'ouest: situation et avenir. Le Courrier Avicole 779: 8-11.
- 4.- AUBERT, C. 1983. Les techniques de L'Héliciculture. Informations Techniques des Services Veterinaires. Paris 115-136.
- 5.- BAGNAR, M. et BONDOIS, J. 1976. L'escargot; Son reseau industriel et comercial, sa biologie, son elevage. I.S.A.R.A. Memoire de fin d'estudes, 5^{ane} Promotion. 1,2 et Annexes Lyon.
- 6.- BAKER, E.W., WHARTON, G.M., 1952. An introduction to Acarology, New York City, Macmilan Co.
- 7.- BAKER, R.A. 1969. Some aspects of the biology and anatomy of Riccardoella linacum (Schränk), Ph.D. Thesis University of London.

- 8.- BAKER, R.A. 1970. Studies on the life history of *Riccardoella limacum* (Schrank) (Acari: Trombidiformes), J. Nat. Hist. 4, 511-519.
- 9.- BAKER, R.A. 1970. The food of *Riccardoella limacum* (Schrank) (Acari: Trombidiformes) and its relationship with pulmonate molluscs. J. Nat. Hist. 4, 521-530.
- 10.- BAKER, R.A. 1973. Notes on the internal anatomy, the food requirements and development in the family Ereynetidae (Trombidiformes). Acarologia 15 1, 43-52.
- 11.- BARKER, G.M., HAMILTON, MAF., RAMSAY, G.W. 1973. Theslug mite *Riccardoella limacum* (Acari: Ereynetidae) in New Zealand. The New Zealand Entomologist. vol. 6, 4, 441-443.
- 12.- BARRIER, J. 1982. Como ganar dinero con la cria del caracol. Ed. Sertebi, Barcelona.
- 13.- BLAOKA, P. 1955. Temperatur adaptation des Gesamtmetabolismus bei der Weinbohrschnecke *Helix pomatia* L. Zool. J.B. Abt. All. Z. Un. Phys. 65, 430-433.

biológico y demás características del *R. limacum* y en base a estos conocimientos se hace un trabajo experimentalmente mediante cortes histológicos y preparaciones microscópicas del grado de infestación del *H. aspersa* por el *R. limacum* y sus localizaciones preferenciales en la cavidad paleal así como su comportamiento.

Se estudia así mismo la influencia de este ácaro en la reproducción del caracol. Se hace un control a lo largo de nueve meses de los parámetros reproductivos de caracoles sanos y parasitados de cuya comparación se deduce la marcada disminución del poder reproductor que ocasiona el *R. limacum*.

Finalmente se ha llevado a cabo por medio de un estudio microscópico histológico y electrónico la presencia del semen en los órganos reproductores del *H. aspersa* y se ha estudiado igualmente las características espermáticas y ultraestructurales de los espermatozoides, determinándose por último las concentraciones espermáticas fisiológicas tanto en caracoles sanos como en parasitados.



1.2. La Helicicultura: su desarrollo y problemática

La utilización del caracol como animal comestible es tan antigua como la misma humanidad. Sus conchas se encuentran en los cúmulos de huesos y otros restos de alimentos de las poblaciones primitivas, en las grutas y cavernas que en tiempos remotos constituyeron la morada de nuestros antepasados. Estos hallazgos fueron más numerosos en Dinamarca, pero tuvieron lugar también en Sicilia, Marruecos y Túnez. El 90 por ciento de las conchas encontradas en Tébessa presentan un agujero circular en la segunda espiral central, agujero que debía haberse realizado para liberar el músculo columelar y facilitar la extracción del molusco.

Más tarde, consumieron y estudiaron los caracoles. Aristóteles fue el primer naturalista que dio una descripción exacta y detallada del caracol.(54)

Los romanos fueron, no solo consumidores sino también criadores. Cayo Plinio el Viejo en su Monumental Historia Natural hace alusión ya a las clases comestibles de estos gastrópodos y Marco

- 27.- CHARPIER, M., DAGUZAN, J. 1978. Etude de la croissance de L'escargot Petit-gris, *Helix aspersa* Müller. *Haliotis* 9, 15-18.
- 28.- CHARNIER, M., DAGUZAN, J. 1980. Etude du bilan hydrique et de son évolution en fonction de la température et de L'humidité relative chez *Helix aspersa* Müller. *Haliotis* 10, 3-36.
- 29.- CHARRIER, M., DAGUZAN, J. 1980. Contribution à L'étude à L'excrétion azotée chez *Helix aspersa* Müller. *Ann. Nutr. Alim.*, 34, (4), 709-724.
- 30.- CHARRIER, M., DAGUZAN, J. 1980. Etude de la consommation alimentaire et de la production de l'escargot Petit-gris, *Helix aspersa* Müller, *Haliotis* 10, 41-44.
- 31.- CHARRIER, M., DAGUZAN, J. 1980. Consommation alimentaire: production et bilan énergétique chez *Helix aspersa* Müller. *Ann. AAlim.* 34, 147-265.
- 32.- CHARRIER, M. 1980. L'ambiance a une influence sur le croissance. *Le Courrier Avicole* 779, 19-24.

- 33.- CHEVALLIER, H., DUFOURNET, P. 1974. L'escargotiere du gisement gallo-romain de Seyssel (Haute-Savoie). Bulletin du Muséum d'Histoire Naturelle de Marseille, 34.
- 34.- CHEVALLIER, H. 1977. La variabilité de L'escargot petit-gris *Helix aspersa*. Müller Bulletin Mureum-Net His.Nat.Zoologie n.311
- 35.- CHEVALLIER, H. 1979. Les escargots: Un élevage d'avenir. Coll. La vie auvert. Ed. Dargaud-Rustica.
- 36.- DAGUZAN, J. 1980. Les principales caractéristiques du Petit-gris. Le Courrier Avicole 779, 15-18
- 37.- DAGUZAN, J. 1981. Contribution à l'élevage de l'escargot Petit-gris (*Helix aspersa* Müller). Ann. Zootech 30, 249-272.
- 38.- DAGUZAN, J. 1983. Principales caractéristiques, Biologique et Ecophysiologiques de l'escargot. Informations Techniques des Services Vétérinaires Paris 5-20.

- 39.- DAGUZAN, J.. 1983. L'elevage de l'escargot on Héliciculture. Informations Techniques des Services Vétérinaires Paris 65-114.
- 40.- DORESTE BETHANCOURT, F. 1935. El caracol, su explotación. Catecismos del agricultor y ganadero, Serie 13 nº 3 Espasa Calpe.
- 41.- DUBDURG, A. 1969. Elever des escargots.... pourquoi pas? Biscaye Frères. Bordeaux.
- 42.- FAIN, A. 1976. Mites collected by J. Trave in the subantarctic islands part 2. Families acaridae andetidae Ereynetidae and tarsonemidae astigmata and rostigmata. Acarologia. Paris (RECD 1977). Vol 18, n. 2. 302-328
- 43.- FAIN, A. RAPORT, J. 1974. New species of the genus Ereynetes from Belgium acarina trombidiformes. Acarologia. Paris. Vol. 15, n. 3. 409-413

- 44.- FAIN, A. 1977. Ereyneetes-Papuanus New-species acari Ereynetidae associated with the hermit crab Coenobita-rugosa from Papua New-Guinea. Annales de la Societé Royale Zoologique de Belgique. Vol 107, n. 3-4. 125-128
- 45.- FAIN, A. 1983. Le dimorphisme sexual chez les Ereynetidae. (Acarina:Trombidiformes). Z. Parasitkde 23, 50-62.
- 46.- FAVERIS, R. 1974 Elevage de l'escargot Helix aspersa. D.E.A. de Biologie animale. Université de Caen.
- 47.- FAYOLLE, R. 1973. Pourquoi et comment créer un parc á escargots. 3^e ed. chez l'auteur.
- 48.- FISCHER, P. 1950. Vie et Moeurs des Mollusques. Ed. Payot.
- 49.- FONOLLA, J. y col. 1980. Determinación del valor nutritivo de diferentes lotes de caracoles Helix aspersa, en condiciones ecológicas controladas. Heliotis 10, (1), 37-40.

- 50.- FONTANILLAS, J.C. 1984. Estudio biológico del *Riccardoella limacum* (Schränk) y su erradicación en las explotaciones del caracol común *Helix aspersa*. Tesina presentada en Madrid. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria.
- 51.- FONTANILLAS, J.C. 1985. Sistemas de erradicación del *Riccardoella limacum* (Schränk) en las explotaciones de caracol común. Zootechnia
- 52.- FUZEAU, PH. 1976. L'élevage des escargots comestibles en France. Interet économique, Technique d'élevage et perspectives de développement. Université de Bordeaux.
- 53.- GALLO, G. 1954. L'allevamento delle lumache. Mondo Agricolo. Roma.
- 54.- GALLO, G. 1980. El caracol, cría y explotación. Ed. Mundi-Prensa, Madrid.

- 55.- GARCIA SAN NICOLAS, E. 1957. Estudio sobre la biología, la anatomía y la sistemática del género *Iberus*, Monfort. Memoria presentada en Madrid para aspirar al grado de doctor en Ciencias Naturales. Universidad de Madrid, Facultad de Ciencias.
- 56.- GARNIER, Q. 1978. L'escargot et son élevage. Ed. Le chevalier, Paris.
- 57.- GATEMBY, J. 1960. Notes on the gametogenesis of a pulmonate mollusc. *La Cellule*, 60, 289-300.
- 58.- GOMOT, L. 1973. Study of the functioning of the reproductive organs of *Helix aspersa* snail by the method of organ cultures. *Archives d'Anatomie, d'Histologie et d'Embriologie*. France. Vol 56. n.1 131-160
- 59.- GRANGEAND, F. 1939. Observations sur les Acarines. Quelques caracteres des Ereyneidae. *Bull. Mus. Hist. Nat. Paris* 11, (2), 394-401.
- 60.- GRASSE, P. 1968. *Traité de Zoologie*, Masson et Cie. Paris. 5 (3).

- 61.- GRIFFOND, B. et BRIDE, J. 1981. Etude histologique et ultrastructurale de la gonade d'*Helix aspersa* Müller à l'éclosion. *Reprod. Nutr. Dévelop.* 21, (1), 149-161.
- 62.- GUÉMENE, D; DAGUZAN, J. 1982. Variations in the reproductive capacities of petit-gris snails *Helix aspersa* in relation to their geographic origin 1. mating and egg laying. *Annales de Zootechnie Paris* Vol. 31, n.4 369-390
- 63.- GUARDABASSI, A. y FERRERI, E. 1953. Istifisiología de ll'apparato digerente di *Helix pomatia*. *Archivó Zoologico*, 38, 61-154.
- 64.- GUEGAN, Y. 1980. Plan d'organisation de l'héliciculture en France. *Le Courrier Avicole* 779, 12-14.
- 65.- HAM, A.W. 1975 *Tratado de Histología*, Séptima edición, Ed. Importécnica, S.A. Madrid.
- 66.- HERZBERG, F. y HERZBERG, A. 1962. Observations on reproduction in *Helix aspersa*. *Amer. Midl. Natural.* 53, (2), 297-306.

- 67.- INSTITUT TECHNIQUE DE L'AVICULTURE. 1977. Conte rendu de session, l'escargot. 28-Rue du Rocher-75008. Paris.
- 68.- JACQUEMINOT, P. et VIVES, P. 1975. L'escargot ce connu, histoire, biologie, élevage, gastronomie, législation. Ed. Jacqueminot, Toulouse.
- 69.- JOSA ARTES, M. 1980. Explotación y cría del caracol. Ed. Sintet, Barcelona.
- 70.- KARBARZ-WIKTOROWICZ, H. 1973. Observations on the morphology of *Riccardoella limacum* Acari Ereynetidae. *Prismo Entomologiczne*. 43, (4) 767-788.
- 71.- KINGSTON, N. 1966. Observations on the laboratory rearing of terrestrial molluscs. *Amer. Midl. Nat.* 76, (2) 528-532.
- 72.- LAPORTE, C. 1974. L'élevage des escargots en parc. Méthode et plans. Ed. Puymirol.

- 73.- LAURENCE, R.F. 1952. A new parasitic mite from the nasal cavities of the South African Toad. *Bufo regularis* Reuss. Proc. Zool. Soc Lond. 121, 747-752.
- 74.- LECOMTE, V. 1975. Conception d'un élevage industriel de l'escargot Petit-gris. Agriculture n° 384.
- 75.- LIND, H. 1968. Hibernating Behaviour of *Helix pomatia*. Vidensk. Medd. Dansk. Naturalist, Foren. Danm. 131, 129-151.
- 76.- LOMNICKY, A. 1971. Structure de la population d'*Hélix pomatia*, contrôle de son importance et quelques problèmes de sa protection. Ochrona Prxyrody, Polska. 36, 189-255.
- 77.- LUCARZ, A. 1984. Experimental study of the effect of population density on egg-laying by the snail *Helix aspersa*. International Journal of invertebrate reproduction and development. Netherlands. Vol 7. n. 3. 185-192

78.- MAINARDI, F. 1977. La cría rentable del caracol.
Ed. Vecchi, Barcelona.

79.- MANN, T. 1981. Male reproductive function and semen
Ed Springer-Verlag. Berlin Heidelberg New York.

80.- MANN, T. 1984. Spermatophores. Ed Springer-Verlag.
Berlin Heidelberg New York Tokyo

81.- MANCA y MANCA, M. 1981. Cría moderna de caracoles.
Ed. Finhaxel S.A.

82.- MARASCO-CORRADO, F. 1982. Guía completa de la cría
de caracoles. Ed. Vecchi.

* 83.- MARTOJA, M. 1964. Développement de l'appareil
reproducteur chez les Gasteropodes Pulmones. Année
Biol. 3, (5-6), 199-232

84.- MASSA-LLES, S.A. 1981. Hojas divulgadoras sobre la
cria del caracol.

85.- MEGLITSCH, P. 1978. Zoología de invertebrados. Ed.
Blumes. Madrid.

- 86.- MEINCKE, K-F. 1974. Die Wirkung der temperatur auf den Stoffarshalt von *Helix pomatia* in Herbst. J. Comp. Physiol. Germ. 98, (1), 103-112.
- 87.- MERIUS, J. 1949. L'escargot. These pour le doctorat vétérinaire. Alfort, Marseille.
- 88.- MEYNADIER, G. 1983. Pathologie, parasitisme et prédatons. Informations Techniques des services Veterinaires. Paris. 53-56
- 89.- MEYNADIER, G. GERGOIN, M. et VAGO, C. 1964. Bactériore épizootique chez les Hélicides (Mollusques). Antonie Von Leruwhcek. 30, (1), 76-80.
- 90.- MINGIOLI, E. 1948. L'industria delle lunache. Casale, F.lli Ottavi.
- 91.- MIOULANE, P. 1980. Los caracoles cría moderna y rentable. Ed. de Vecchi. Barcelona.
- 92.- ONE, Actualidad pecuaria. Enero 1930. Las granjas de caracoles. Ed. Jimon. 5, 122-124.

- 93.- PAQUIER RAYMOND, A. 1976. L'élevage des escargots; ses problemes. These pour le doctorat Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.
- 94.- PARDO, L. 1943. Los caracoles, heliocultura elemental. Ministerio de Agricultura; Sección de publicaciones, prensa y propaganda. Madrid.
- 95.- PAZ GRAELLS, M. 1846. Catálogo de los moluscos terrestres y de agua dulce observados en España (Museo de Ciencias Naturales). Madrid.
- 96.- PELLVET, D. 1964. On the hormonal control of cell differentiation in the ovotestis of slugs. 42, (2), 195-199.
- 97.- PERDAIER, G. 1974. L'escargot de conserve. These pour le doctorat Vétérinaire, Toulouse.
- 98.- PEREZ GARCIA, T. 1931. (Comunicación personal). Cátedra de Biología. Facultad de Veterinaria de Madrid.
- 99.- PERROT, J. 1938. La confection du nid et la ponte chez l'*Helix pomatia* linné. Revue Suisse Zoo. 45, (4), 221-235.

- 100.- POLLARD, E. 1975. Aspects of the ecology of *Helix pomatia* linne. M. Animal Ecol. Great Britain. 44, (1), 305-329.
- 101.- PRUDHOMME, M. 1960. Hygiène des denrées alimentaires. Les escargots. RLV. de Méd. Vét. 111, 456-461.
- 102.- QUADRA SALCEDO, 1936. Helicicultura lucrativa. Hojas divulgadoras del Ministerio de Agricultura año 30 número 2.
- 103.- RANZOLI, F. 1956. Osservazioni sulla spermatogenesi di *Helix lucorum* 1. Boll. Zool. Ital. 23,(2), 565-571.
- 104.- ROBY, 1979. L'elevage des escargots. Editions du point Vétérinaire, Marseille.
- 105.- ROUSSELET, M. L'elevage des escargots. 1979. Les éditions du point veterinaire. Marseille.
- 106.- ROUSSELET, M. 1982. Cría del caracol. Ed.undi Prensa. Madrid.

- 107.- COMPTON, H. 1975. Guías de disección, invertebrados. Ediciones Urania, Barcelona. 1.
- 108.- SCHUMACHER, H.H. y HOLPPLI, R. Histochemical reactions to Trombiculid mites, with special reference to the structure and function of the "stylostome" Z. Tropenmed Parasit 14, 192 (1963).
- 109.- SINQUIN, J.P. 1980. Le marché français et international de l'escargot. Le courrier Avicole. 779, 3-7.
- 110.- STEPHENS, G.J. y GAUGH, J.L. 1972. Biological factors related to learning in the land snail *Melix aspersa* Muller. Animal Behav. 20, (2), 309-315
- 111.- THEVENOT, A. et LESOURD, F. 1974. L'escargot et la grenouille comestible. Ed. La Maison Rustique. Paris.
- 112.- THOR, S. Acarina. Tydeidae, Ereynetidae. Tierreich 60, 1 (1933).

- 113.- TUDORENCEA, C. et SPIREAU, S. 1971. Observations au sujet de l'écologie d'une population de *Helix pomatia*. Stud Cerc. Biol. Zool. Roman 23, (3), 277-283.
- 114.- TURCEK, F.J. 1970. Studies on the ecology and production of the Roman snail *Helix pomatia*. Biol. Ceskosl, Bratislava. 25, (25), 103-108
- 115.- TURK, F.A. y PHILLIPS, S.M. 1946. A monograph of the slug mit *riccardoella limacum* (Schrank). Proc. Zool Soc. London 115, 448-452
- 116.- VILADEVALL, I. 1983. El caracol, cría y producción . Ed. Aedos
- 117.- VORWOHL, G. 1961. Zur Funktion der Excretionsorgane Von *Helix pomatia* L. Gould, Titzsch. Vergl. Phys., 45, 12-49
- 118.- WAGGE, L.E. 1952. Quantitative studies of calcium metabolism in *Helix aspersa* Journal of Experimental Zoology. 120, 311-342

ANEXO - I

Aparatos y material diverso

1. Microscópio binocular REICHER BIOVAR
2. Lupa binocular LEITZ-WETZLAR
3. Frigorífico ODAG, mod. 451, 220 V
4. Estufa de desecación y esterilización P. SELECTA, mod. 209, nº 69954
220 V, 750 w.
5. Humidificador DEFENSOR AG, mod. 505, Hz c/s: 50
6. Microtomo LEITZ-WETZLAR
7. Balanza COBOS, fuerza 0,1 g - 200 g
8. Cajas de plástico de 30 x 15 x 10 cm
9. Placas de Petri
10. Tijeras de disección
11. Formol p.a
12. Xilol p.a
13. Alcohol etílico PANREAC p.a
14. Lactofenol de Amman
15. Acido acético PROBUS p.a
16. Vasos de precipitado, matraces aforados y diverso material de laboratorio

